

**INFLUÊNCIA DA ETAPA DE FILTRAÇÃO NA ESTABILIDADE DO
AZEITE VIRGEM EXTRA DURANTE A SUA CONSERVAÇÃO**

Andreia Filipa Fialho Ribeiro

Beja

2018

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA

Escola Superior Agrária de Beja

Mestrado em Engenharia Alimentar

**INFLUÊNCIA DA ETAPA DE FILTRAÇÃO NA ESTABILIDADE DO
AZEITE VIRGEM EXTRA DURANTE A SUA CONSERVAÇÃO**

**DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE GRAU DE MESTRE EM ENGENHARIA ALIMENTAR,
APRESENTADA NA ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE BEJA DO INSTITUTO POLITÉCNICO
DE BEJA**

Autora:

Andreia Filipa Fialho Ribeiro

Orientadora:

Doutora Isabel Maria Pereira Caldas Baer

Beja

2018

*‘Foi o tempo que dedicaste à tua
rosa que a fez tão importante...’*

O Pequeno Príncipe

AGRADECIMENTOS

Os longos meses que levaram à realização e conclusão desta dissertação de mestrado só foram possíveis graças ao apoio de várias pessoas e entidades, que através do seu contributo pessoal e/ou profissional me acompanharam, guiaram e sobretudo, conseguiram transmitir os valores necessários para que eu subisse um degrau na minha formação. Não conseguindo agradecer a todos individualmente, destaco aqui os mais envolvidos.

Primeiramente à minha Mãe, pois é com grande alegria e gratidão que lhe dedico esta minha vitória, uma vez que me possibilitou todo o suporte, seja ele sentimental ou financeiro, no decorrer da minha vida, e sobretudo porque sempre lutou para que eu nunca desistisse da minha formação;

À minha Orientadora e Professora Doutora Isabel Baer, por me ter acolhido de braços abertos, pela disponibilidade manifestada durante toda a realização deste trabalho, pelas noites prolongadas e por me ter transmitido tão valiosos conteúdos, que fizeram de mim uma pessoa formada;

À Professora Doutora Silvina Ferro Palma, por me ter encaminhado e não me ter feito desistir deste trabalho, pelas proveitosas sugestões e sobretudo disponibilidade em receber-me a qualquer momento;

A todos os docentes, colaboradores e colegas do Mestrado de Engenharia Alimentar, da ESAB, o meu muito obrigada pelos ensinamentos, pelo apoio e incentivo transmitidos;

À Fundação Eugénio de Almeida, sobretudo ao Eng.º Pedro Batista, que com grande carinho me disponibilizaram as amostras, que foram a base para que conseguisse realizar este trabalho, e por toda a confiança que me depositaram e o à vontade para utilizar as instalações. Agradecer também, à minha querida Ângela Campaniço, que além de uma grande profissional se tornou numa grande amiga. Ao Herlander Beco e à sua equipa maravilha por me receberem sempre bem e me ajudarem no que precisei;

À minha equipa da ATEVA, os Eng.ºs Francisco Mata, José Almeida, Hugo Pardal e Rita Ferro que sempre que necessário dispensaram o meu trabalho profissional para que eu conseguisse realizar a minha dissertação, fazendo assim com que eu não desistisse;

À ACOS, em especial à Dr.^a Helena Monteiro e Eng.^a Patrícia Traguedo, por me terem disponibilizado equipamentos e instalações, nomeadamente o Bruker;

Ao meu grande colega, que se tornou num grande amigo, António Almeida, um gigante obrigada, pelas vezes que fez de pai, de conselheiro, de professor. Devo-lhe muito, pois nunca me (nos) fez desistir e sempre disposto a dar-nos aquele empurrão para subirmos um degrau na vida. Além de mestre sábio é um mestre amigo;

Ao meu Gonçalo e Chico, por acompanharem-me sempre, não me fazerem desistir e sobretudo terem participado nas minhas descargas revoltosas com este trabalho;

Às minhas melhores amigas, Carolina Fialho e Helena Valido, por terem sido um pilar de força, pela paciência dos meus telefonemas a demonstrar desistência, mas que jamais me fizeram desistir;

E por último, porque os últimos são sempre os primeiros, um agradecimento especial à minha professora querida, que considero como uma madrinha, Maria do Rosário Félix. A esta grande amiga, que sempre me incentivou a não ficar por uma licenciatura, que me abre sempre os seus braços e me recebe com todo o carinho. Uma autêntica profissional, com uma sabedoria imensa, da qual lhe dedico um pouco da minha sabedoria e esforço.

RESUMO

O Azeite Virgem Extra representa um dos produtos alimentares mais importantes na dieta mediterrânea, sendo muito apreciado pelos consumidores devido às propriedades organoléticas, qualidades nutricionais e de saúde, e elevado tempo de vida útil. A crescente procura por parte de países não produtores e o atual reconhecimento da qualidade dos azeites portugueses tem-se refletido num aumento constante das exportações, sendo Portugal, atualmente, um dos maiores exportadores mundiais. Entre os mercados de destino das exportações nacionais, destaca-se o mercado brasileiro que absorve cerca de 30% do total das exportações nacionais de azeite, fazendo com que este produto seja igualmente o produto português mais exportado para aquele país. A par do crescente interesse pelo azeite como produto saudável, o consumidor esclarecido demonstra igualmente interesse por produtos de elevada qualidade, naturais e minimamente processados, pelo que a comercialização de azeite virgem não filtrado poderá ser uma mais valia para as empresas exportadoras.

O principal objetivo deste trabalho é avaliar a estabilidade de diferentes amostras de azeite virgem extra, filtrado e não filtrado, a partir do estudo da influência da temperatura e do tempo de armazenamento na sua composição química, de modo a prever a possibilidade de exportação de azeite virgem extra não filtrado para o Brasil.

Realizaram-se as seguintes análises pelo método Nir: percentagem de acidez, índice de peróxidos, índice espectrofotométrico K270, ácidos gordos (oleico, linoleico, linolénico e palmítico); e os seguintes por métodos de bancada: polifenóis totais, pigmentos clorofilinos e carotenóides .

Conclui-se que tanto as amostras filtradas como não filtradas mantiveram a classificação de virgem extra, sendo a temperatura que mais altera as características iniciais dos azeites a de 30°C e o parâmetro mais afetado a percentagem de acidez.

Palavras-Chave: Composição Química, Vida Útil, Temperatura, Exportação, Qualidade

ABSTRACT

Extra Virgin Olive Oil represents one of the most important food products in the Mediterranean diet, being highly appreciated by consumers due to its organoleptic properties, nutritional and health qualities, and long shelf life. The growing demand from non-producing countries and the current recognition of the quality of Portuguese olive oils has been reflected in a steady increase in exports, and Portugal is currently one of the largest exporters in the world. Among the destination markets for national exports, the Brazilian market is worth mentioning, which absorbs about 30% of the total national exports of olive oil, making this product also the most exported Portuguese product to that country. In addition to the growing interest in olive oil as a healthy product, savvy consumers also show an interest in high quality, natural and minimally processed products, so that the marketing of unfiltered virgin olive oil may be of value to exporting companies.

The main objective of this work is to evaluate the stability of different samples of extra virgin olive oil, filtered and unfiltered, from the study of the influence of temperature and storage time on its chemical composition, in order to predict the possibility of exporting olive oil extra virgin unfiltered to Brazil.

The following analyzes were carried out using the Nir method: acidity, peroxide index, K270 spectrophotometric index, fatty acids (oleic, linoleic, linolenic and palmitic); and the following by bench methods: polyphenols pigments chlorophyllines and carotenoids.

It is concluded that both the filtered and unfiltered samples maintained the extra virgin classification, with the temperature that most changes the initial characteristics of the oils at 30°C and the parameter most affected the percentage of acidity.

Key Words: Chemical Composition, Shelf Life, Temperature, Export, Acidity, Quality

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE ESQUEMAS E TABELAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. O AZEITE EM PORTUGAL E NO MUNDO - HISTÓRIA	3
2.2. MERCADO DO AZEITE: PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO	6
2.3. A AZEITONA	10
2.4. O AZEITE	11
2.4.1. CLASSIFICAÇÃO DO AZEITE	12
2.4.2. A QUALIDADE DO AZEITE	12
2.4.3. A COMPOSIÇÃO QUÍMICA	13
2.4.3.1. FRAÇÃO SAPONIFICÁVEL	14
2.4.3.2. FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL	16
2.5. EXTRAÇÃO DO AZEITE	20
2.5.1. MOENDA E TERMOBATEDURA	21
2.5.2. SEPARAÇÃO DO AZEITE POR CENTRIFUGAÇÃO	21
2.5.3. ARMAZENAGEM E EMBALAMENTO DO AZEITE	22
2.6. REAÇÕES DE DEGRADAÇÃO DO AZEITE	22
2.6.1. OXIDAÇÃO	23
2.6.1.1. AUTO-OXIDAÇÃO.....	24
2.6.1.2. FOTO-OXIDAÇÃO	26
2.6.1.3. OXIDAÇÃO ENZIMÁTICA	27
2.6.1.4. AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES.....	28

2.6.2.	HIDRÓLISE.....	29
2.7.	A FILTRAÇÃO	30
2.7.1.	SISTEMAS DE FILTRAÇÃO	31
2.7.2.	INFLUÊNCIA DA FILTRAÇÃO	32
3.	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	35
3.1.	CARACTERIZAÇÃO DO LAGAR	35
3.2.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	35
3.3.	MATERIAS, EQUIPAMENTOS E MÉTODOS ANALÍTICOS	41
3.4.	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	46
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1.	RESULTADOS POR PARÂMETROS.....	47
4.1.1.	ACIDEZ.....	47
4.1.2.	ÍNDICE DE PERÓXIDOS.....	49
4.1.3.	ÍNDICE ESPETROFOTOMÉTRICO K270.....	51
4.1.4.	ÁCIDOS GORDOS	52
4.1.5.	POLIFENÓIS	55
4.1.6.	PIGMENTOS CLOROFILINOS E CAROTENÓIDES.....	56
5.	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Azeite em Portugal. Tendências nas últimas cinco décadas	7
Figura 2 Exportação Portuguesa de Azeite 2015/16 - principais destinos	8
Figura 3 Azeite Extraído por Região na Última Campanha (2017/18)	9
Figura 4 Produção: Evolução Recente e Tendência Estimada para o Horizonte 2020....	9
Figura 5 Exportações: Evolução Recente e Tendência Estimada para o Horizonte 2020	10
Figura 6 Estrutura química dos principais compostos fenólicos presentes no azeite (Baer, 2015)	18
Figura 7 Estrutura química das moléculas de clorofila e β -caroteno (Baer, 2015)	19
Figura 8 Etapas de Extração e Engarrafamento de Azeite no Lagar Cartuxa	38
Figura 9 Distribuição e Identificação das amostras em estudo.....	39
Figura 10 Recipiente utilizado para armazenamento das amostras	41
Figura 11 Tampas de rosca que celaram o recipiente	41
Figura 12 Equipamento Bruker	42
Figura 13 Análise de polifenóis totais a aguardar a separação das fases e o balão de 50 ml para recolha da mesma	44
Figura 14 Evolução da percentagem de acidez nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura	49
Figura 15 Evolução dos peróxidos das amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura	50
Figura 16 Evolução do índice espectralométrico K270 nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura	52
Figura 17 Evolução dos polifenóis (mg/kg de azeite) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura	56
Figura 18 Evolução da clorofila (mg/kg) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura.....	57
Figura 19 Evolução dos carotenos (mg/kg) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura.....	59

ÍNDICE DE ESQUEMAS E TABELAS

Tabela 1 Categorias para classificação do azeite virgem	12
Tabela 2 Composição do azeite virgem extra em ácidos gordos	15
Tabela 3 Triglicéridos mais abundantes no AVE.....	16
Tabela 4 Efeitos positivos e negativos da filtração nos parâmetros-chave da qualidade do AVE.....	34
Tabela 5 Identificação dos equipamentos que se encontram no Lagar Cartuxa para produção de azeite	35
Tabela 6 Constituição dos lotes de azeite virgem extra do ensaio	36
Tabela 7 Significado de cada sigla de acordo com local, lote e filtração.....	40
Tabela 8 Significado de cada sigla das amostras	40
Tabela 9 Identificação das Terras de Filtração Utilizadas	42
Tabela 10 Percentagem de acidez das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)	48
Tabela 11 Índice de Peróxidos (meq O ₂ /Kg) das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise).....	50
Tabela 12 Valores de K270 das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise).....	51
Tabela 13 Valores (%) dos ácidos gordos oleico, linoleico, linolénico e palmítico das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)	54
Tabela 14 Valores dos polifenóis em mg/kg de azeite das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise).....	55
Tabela 15 Clorofila em mg/kg das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)	57
Tabela 16 Carotenos em mg/kg das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)	58

1. INTRODUÇÃO

A produção de azeite é uma das atividades agrícolas mais características da região mediterrânea e o setor oleícola apresenta um papel importante no crescimento e desenvolvimento económico, social e cultural de um país. A Indústria Agro-Alimentar, onde se encontra integrado este setor, tem vindo ao longo do tempo a trabalhar de forma a obter produtos que satisfaçam as exigências dos consumidores, do ponto de vista nutricional, ambiental e de segurança e qualidade alimentar.

À medida que os consumidores vão adquirindo maior conhecimento sobre o azeite virgem extra (AVE), questionam se é melhor comprar AVE filtrado, limpo de partículas, ou se será preferível comprar não filtrado, mais natural e próximo do fruto que lhe deu origem.

Da mesma forma que um sumo de laranja recém-espremido, também o ‘sumo’ das azeitonas recém-espremido – o azeite – contém impurezas, que são basicamente pequenas partículas de água, da película, da polpa e do caroço provenientes diretamente do fruto, a azeitona. O azeite é extraído da pasta de azeitonas trituradas, primeiro através de uma centrífuga horizontal que separa os sólidos (polpa, caroço e película) e a água de constituição da azeitona e depois por uma centrífuga vertical, responsável pela limpeza do azeite, separando ainda as pequenas partículas em suspensão que não foram eliminadas na etapa anterior. Apesar disso ficam sempre impurezas integradas no ‘sumo’ que, com o passar do tempo, se vão depositando de forma totalmente natural, em depósitos de decantação ou nos depósitos de armazenamento dos lagares, onde repousa o azeite até ao seu embalamento. Assim, este processo de decantação natural devido às diferenças de densidades, faz com que as impurezas se vão precipitando até ao fundo do depósito e poderão se ir eliminando. Esta operação é mais ou menos lenta, em função de vários fatores e depende muito do estado de maturação das azeitonas, da temperatura e do processo de extração.

Antes do embalamento ocorre, para a maioria dos azeites virgens, uma etapa de filtração que tem como principal objetivo retirar ainda algumas partículas que tenham permanecido em suspensão, tornando o azeite turvo e, provavelmente, menos estável quimicamente, facto de importância considerável se o objetivo da empresa for a exportação. No entanto os filtros podem reter também compostos considerados benéficos

para o azeite e para os consumidores, como por exemplo compostos fenólicos, antioxidantes naturais, e cor.

O ensaio realizado tem assim como principal objetivo o estudo das características físicas, químicas e sensoriais, de lotes de azeite, constituídos por diferentes cultivares de azeitona, filtrados e não filtrados, tendo como destino a exportação e o consumo interno, sujeitando as amostras a diferentes temperaturas durante um determinado período de conservação, para verificação da influência da filtração na maior ou menor estabilidade do azeite nas condições habituais de transporte e armazenamento.

A disponibilidade desta informação pode permitir fundamentar a eleição da escolha da produção de um AVE filtrado ou não filtrado; também o consumidor através da informação presente pode fundamentar a opção de escolha entre AVE filtrado e não filtrado.

O trabalho apresenta-se estruturado em cinco capítulos independentes, divididos em sub-capítulos. Ao primeiro capítulo introdutório segue-se o capítulo dois que apresenta uma revisão bibliográfica sobre os temas desenvolvidos na parte experimental do trabalho. Faz-se inicialmente uma abordagem à história do azeite em Portugal e no Mundo, realçando a importância que o consumo e as exportações de azeite português têm desde a Antiguidade e abordando-se depois a situação atual e as previsões para o futuro em termos de produção e exportação. O capítulo continua com a composição da azeitona e do azeite e descreve as etapas tecnológicas para a sua obtenção, desenvolvendo depois as principais reações de degradação do azeite que mais importância têm no desenrolar do ensaio experimental, de acordo com objetivo do trabalho. O capítulo dois termina com os principais tipos de filtros utilizados para a filtração do azeite e apresenta uma compilação das vantagens e desvantagens desta etapa para a sua qualidade e estabilidade. O capítulo três descreve o procedimento experimental, iniciando-se pela caracterização do lugar onde se obtiveram as amostras, passando depois ao delineamento experimental, caracterização das amostras, descrição dos materiais e métodos e do tratamento estatístico utilizados. No capítulo quatro apresentam-se os resultados em tabelas e gráficos e faz-se a sua discussão por parâmetro analisado. Finalmente no capítulo cinco apresentam-se as conclusões do ensaio realizado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O AZEITE EM PORTUGAL E NO MUNDO - HISTÓRIA

As oliveiras são monumentos vivos da história da humanidade. Árvore mítica e símbolo da imortalidade funde-se com a história, a tradição e a cultura dos povos mediterrânicos (The Olive World, 2018).

Ao longo da história, pelas suas características de resistência a todo o tipo de solos, a intempéries e a calamidades a oliveira esteve muito presente no quotidiano das sociedades associada a práticas religiosas, a mitos e tradições, a manifestações artísticas e culturais ou a usos medicinais e gastronómicos (The Olive World, 2018).

A utilização da azeitona e a produção de azeite na Península Ibérica surgem com as ocupações por via marítima dos Fenícios tendo os Romanos encontrado uma grande tradição do plantio de olival na Hispania Citerior. Após a III Guerra Púnica e a invasão romana no século II a. C., iniciou-se o cultivo intenso e extensivo na nova colónia no vale da Bética e ao longo da costa mediterrânea. No tempo de Plínio (65 a. C.), descreve-se a excelência do azeite da Bética, um dos mais apreciados em Roma. A exportação de azeite bético para Roma, e também para o resto do Império, foi considerável, havendo referência ao azeite bético nos acampamentos militares na Mauritânia, em Alexandria (Egipto), na Tingitânia, na cidade de Colónia (Alemanha), mas também na Holanda e Inglaterra. Mas a exploração em grande escala no interior iniciou-se com a invasão árabe na Península Ibérica. As palavras azeitona, azeite, azebuche ou azambuja têm origem árabe. Com a colonização da América, a cultura passou de Espanha para o Novo Mundo. (Böhm)

Pouco se sabe dos inícios de cultivo da oliveira em Portugal. Os mais impressionantes vestígios desta época são as oliveiras milenárias ainda hoje existentes em muitos exemplares, no sul e centro do país. As árvores mais antigas comprovam a grande longevidade das oliveiras. Uma certa parte do nosso olival antigo (Algarve e Alentejo) ainda mantém cultivares do tempo da ocupação muçulmana. Sabe-se que algumas das oliveiras presentes em Portugal têm uma idade com quase 3.000 anos. (Böhm)

O mais antigo indício de produção de azeite documentado no espaço hoje português é o torcularium (lagar) do Castelo da Lousa, Mourão. Para a plena época da presença romana, entre o século I e o V d. C., na região do Alentejo, foi possível documentar vários lugares onde se produziu azeite: Pisões, (Beja), Horta do Cano, Pedrógão (Beja), ou o Monte da

Fareleira, Pedrógão (Beja), um sítio romano que nunca foi objeto de escavação, mas que revelou à superfície do terreno o impressionante número de 20 contrapesos paralelepípedicos. Para além destas, outras instalações mais modestas puderam ser associadas à produção de azeite, pela identificação simultânea de contrapesos e mós de lagar, como é o caso dos sítios de Herdade do Montinho, Quintos (Beja); Cidade das Rosas, Serpa; Horta dos Testudos, Serpa; Alter do Chão, a villa romana de Sta. Vitória do Ameixial, Estremoz, ou a villa de Monte do Meio (Beja), onde uma antiga área residencial, com pavimento de mosaico, foi reconvertida em lagar de azeite, em época romana tardia. Uma construção, parcialmente posta a descoberto por trabalhos agrícolas, no sítio romano das Represas, Beja, revelou vestígios de um lagar de azeite. (Böhm)

Na época muçulmana o cultivo de muitas árvores deve ter-se intensificado, como o da oliveira, cujo nome é de origem românica sendo, no entanto, árabe a designação do fruto – azeitona (al-zaytūna) – e do óleo que dele se extrai – azeite (al-zayt). Para o desenvolvimento da agricultura no Al-Andalus contribuíram, por certo, os tratados agrícolas, como o “Calendário de Córdoba”, datado de 961, e ainda o célebre “Livro da Agricultura”, escrito no século XII pelo agrónomo sevilhano Ibn Al-Awwâm. (Böhm)

Segundo o “Calendário de Córdoba” (século X), as azeitonas deviam ser recolhidas em Setembro e Outubro. As azeitonas constituíam importante elemento da dieta mediterrânea e, segundo a obra “Livro dos Alimentos”, de Ibn Halsun (século XIII), existem duas variedades que devem ser consumidas às refeições, em distintos momentos. Assim, as azeitonas pretas (al-zaytūn al-aswad), devem comer-se antes da refeição pois “abrem o apetite e digerem-se facilmente”, enquanto as azeitonas verdes (al-zaytūn ah-ahdar) durante a refeição pois “fortificam o estômago. As melhores são muito carnudas com pequeno caroço e um gosto amargo”. Segundo o mesmo autor, as azeitonas salgadas (al-mutammar) não são recomendadas para a saúde. (Böhm)

O azeite produzido no al-Andalus era considerado muito bom, sendo por isso exportado tanto para o Magreb como para o Egipto. Produziram-se três variedades de azeite, com distintas qualidades, sendo um considerado superior ou azeite virgem (zait al-ma’), outro médio ou de prensa (zait al-badd), enquanto o terceiro era denominado inferior (al-zait al matbuj), refletindo características que se relacionam com os procedimentos efectuados para a sua produção, assim como a sua pureza, acidez e cor. (Böhm)

Além da iluminação, o azeite era comum na confeção dos alimentos, dado ser raro o prato que não o utilizasse. Era, de igual modo, indicado para a conservação de alimentos. Na medicina, o azeite foi recomendado para o tratamento de eczemas, cólicas, obstrução dos intestinos, lombrigas, e ajudaria a vomitar no caso de se ter ingerido algum veneno. A goma da azeitona era considerada muito boa para fazer desaparecer feridas. (Böhm)

Alvarás do séc. XII comprovam que Coimbra, Santarém, Beja e Torres Novas tinham olivais e lagares de azeite, sendo importante o comércio correspondente. A partir do século XIII, o azeite foi um dos nossos principais produtos de exportação, por exemplo para Inglaterra, no reinado de Henrique II. Só no ano de 1226, foram passados por Henrique II mais de 100 salvos-condutos a mercadores de Portugal - para eles, seus bens e mercadorias. “Posição que manterá posteriormente, podendo afirmar-se que esta gordura era um produto muito abundante na Idade Média” (site: Casa do Azeite). Alguns autores afirmam que o maior desenvolvimento desta cultura se verificou nas províncias onde a reconquista chegou mais tarde. Os forais dos mouros forros de Lisboa, Almada, Palmela e Alcácer do Sal dados por D. Afonso Henriques em 1170 e, mais tarde, o dos mouros do Algarve (1269), e o de Évora (1273), referem-se expressamente à cultura da oliveira. Os Cistercienses criaram uma cadeia de lagares de azeite que eram explorados pela Ordem de Cister em regime de monopólio. No século XIV, a olivicultura avançou até o centro do país, de Coimbra a Évora. “Ainda no reinado Dom Fernando I havia tanta abundância de azeite no país que Flandres, Alemanha, Castela, Leão e Galiza se abasteciam de azeite de Lisboa, Coimbra, Elvas, Mora e Beja”. (Böhm)

Foi em Évora que se lavrou (1392) a primeira regulamentação do ofício de lagareiro; reconhece-se em antigos alvarás que o rei proibiu cortar ou trazer lenha de oliveira alheia, verde ou seca, e impôs pesadas multas a todo o proprietário de gado se este entrasse nos olivais. Grande parte dos terrenos foi, nessa fase, destinada a culturas permanentes de vinhas e olivais. Em consequência, aumentaram as produções, condição indispensável para a expansão, especialmente no Alentejo, no Algarve e na Estremadura até Coimbra. O Norte foi considerado terra infértil pela falta de aptidão para a cultura da oliveira. (Böhm)

Com os descobrimentos cresceu a procura de azeite e foi também nesta altura, com as expedições marítimas, que a oliveira se espalhou por todo o mundo, desde a Argentina, Austrália, Chile, Estados Unidos da América, até ao Japão, México, China e República

da África do Sul, entre outros. Nos reinados de D. Sebastião e D. Henrique I, a exportação para Inglaterra era da máxima importância; mantinha-se também para a Flandres, Alemanha, Castela-a-Velha, Leão, Galiza, Índia e Brasil. Nos séculos XVII e XVIII, após a Restauração, o azeite era um dos principais produtos exportados para Inglaterra. Por volta de 1840 teve início um movimento de renovação dos lagares. (Böhm)

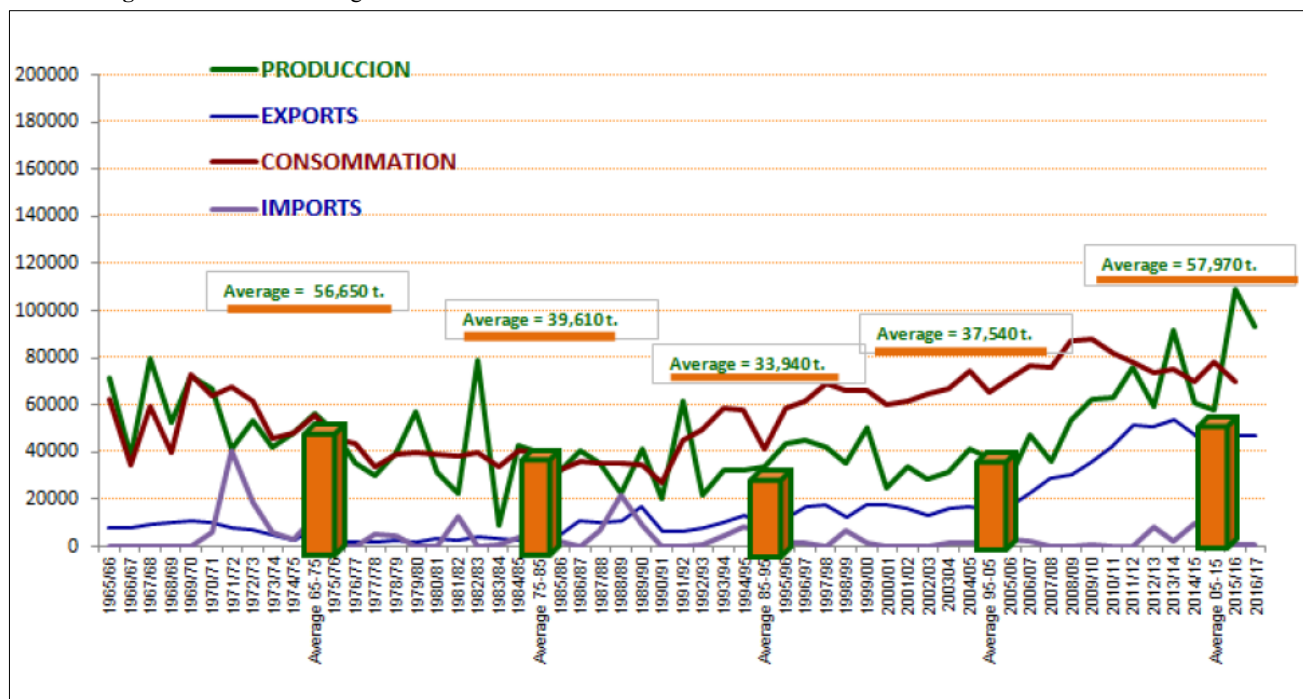
A oliveira representa, ao lado da videira, a mais antiga cultura permanente na alimentação humana. Na altura da adesão de Portugal à União Europeia, o País ainda importava metade do azeite que consumia. Entretanto, desenvolveu-se grandemente a nossa olivicultura, não só ultrapassando o défice na produção, mas também promovendo o azeite português como um importante produto de exportação. A indústria do azeite, há duas décadas, ainda estava tecnologicamente atrasada e sem grande importância profissional, porém, soube desenvolver-se entretanto, de uma forma magnífica. O maior produtor nacional já detém o segundo lugar no ranking internacional, e o nosso segundo produtor segue poucos lugares atrás. (Böhm)

2.2. MERCADO DO AZEITE: PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO

As oliveiras são monumentos vivos da história da humanidade. Árvore Em 2017 a área de olivicultura em Portugal era de 352000ha, dos quais 23% eram irrigados, enquanto o restante era alimentado pela chuva. Os maiores domínios de oliveiras encontram-se na região do Alentejo, que representa 50% da área total de olivicultura, seguida de Trás-os-Montes (22%), Centro (18%), Ribatejo (7,7%) e Algarve (2,3%). Aproximadamente 97,5% da área total da superfície é utilizada para cultivar azeitona para produção de azeite, e a restante para azeitona de mesa. Seis por cento da área de produção da azeitona é utilizada para a agricultura biológica. (International Olive Council, Março de 2017)

A olivicultura é uma atividade agrícola significativa em Portugal, que gera 95,5 milhões de euros e representa 1,36% do valor da produção agrícola. O setor oleícola emprega 1431 pessoas (1,6% do total da agricultura e indústria alimentar); Possui mais de 495 lagares, 12 refinarias e 17 extractores de óleo de bagaço de azeitona (International Olive Council, Março de 2017).

Figura 1 Azeite em Portugal. Tendências nas últimas cinco décadas



Fonte: International Olive Council, Março de 2017

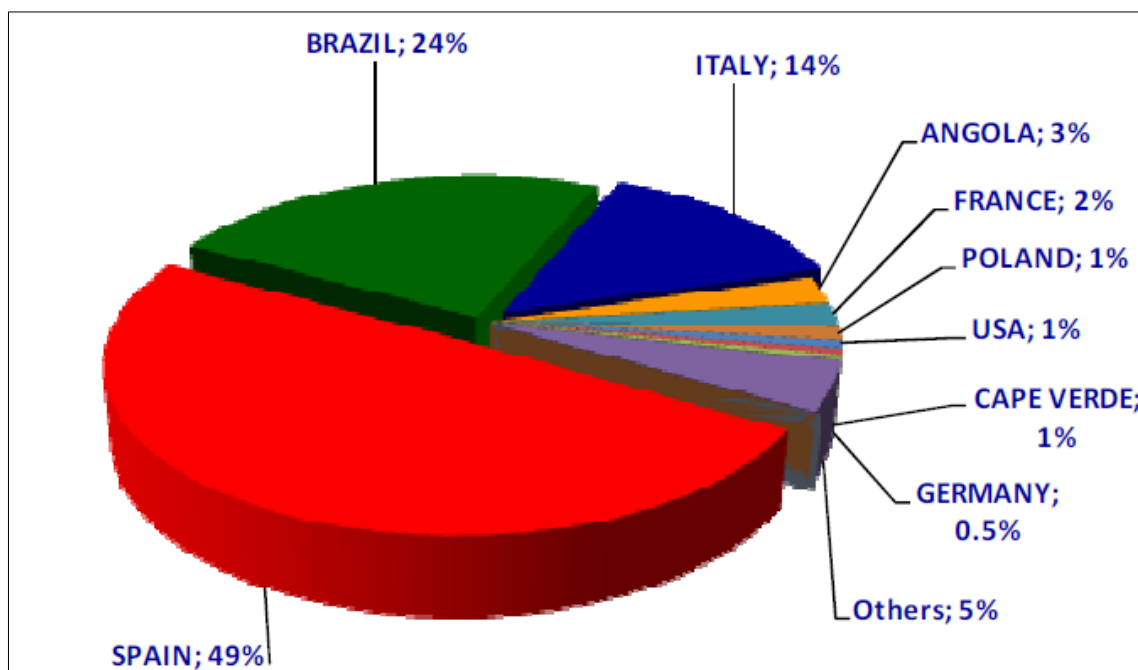
Como se pode observar na Figura 1, nas últimas cinco décadas, a olivicultura em Portugal passou por diferentes etapas. Entre 1950 e 1998, houve uma mudança na substituição da oliveira por outras culturas, resultando no envelhecimento dos olivais e gerando elevados custos de produção, o que desencadeou uma grave crise no setor da oliveira. No ano de 1986, quando Portugal integrou a UE, marcou o início de um período de modernização do setor, protegendo os olivais e incentivando a extensão das áreas de cultivo da oliveira. A tendência, nos últimos anos, tem sido a modernização, melhoria dos procedimentos de produção, plantio de novos olivais intensivos e superintensivos, com perfil mais produtivo através da modernização do tradicional olival (poda de rejuvenescimento, irrigação) bem como um aumento na capacidade de extração dos lagares. (International Olive Council, Março de 2017)

A Figura 1 ilustra as tendências nas últimas cinco décadas, atingindo a produção média na última década de 2005-15 de 57970 toneladas. Atingiu-se um recorde de produção na campanha de 2015/16 com 209,15 toneladas, dos quais 78% da produção foi de AVE (85285 t), 17% de azeite virgem (19095 t) e 4% de azeite virgem lampante (4745 t).

As exportações portuguesas de azeite durante a campanha de 2015/16 aumentaram 8% em comparação com a campanha anterior, atingindo um volume total de 137145,10 t, dos quais 69% foram vendas intra-EU. Como indica Figura 2, os mercados de destino

destas vendas intra-EU são principalmente Espanha, Itália e França (International Olive Council, Março de 2017).

Figura 2 Exportação Portuguesa de Azeite 2015/16 - principais destinos

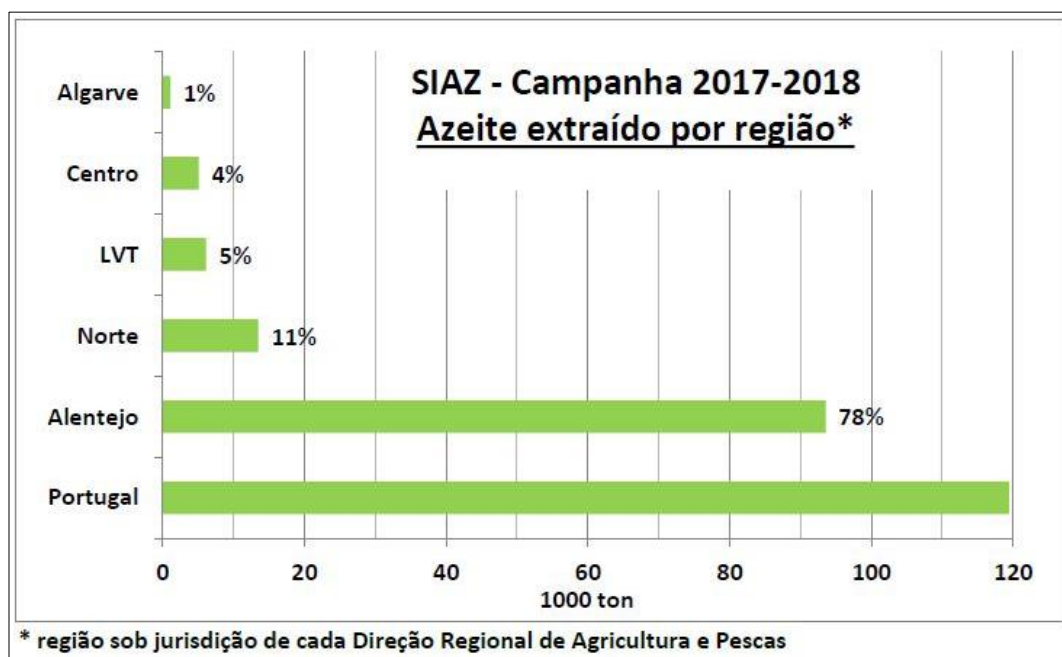


Fonte: International Olive Council, Março de 2017)

Observando a Figura 2 verifica-se que o principal destino das exportações extra-UE é o Brasil, com 24% do total das exportações, seguido por Angola (3%). Em termos de categoria de produto, 81% do total das exportações são de azeite virgem e virgem extra, 11% de azeite e 8% de óleo de bagaço de azeitona (International Olive Council, Março de 2017).

Em termos de produção nacional de azeite, especificamente para a região do Alentejo, esta subiu de 75%, na campanha 2016/17, para 78%, na campanha 2017/18, como se pode observar na Figura 3.

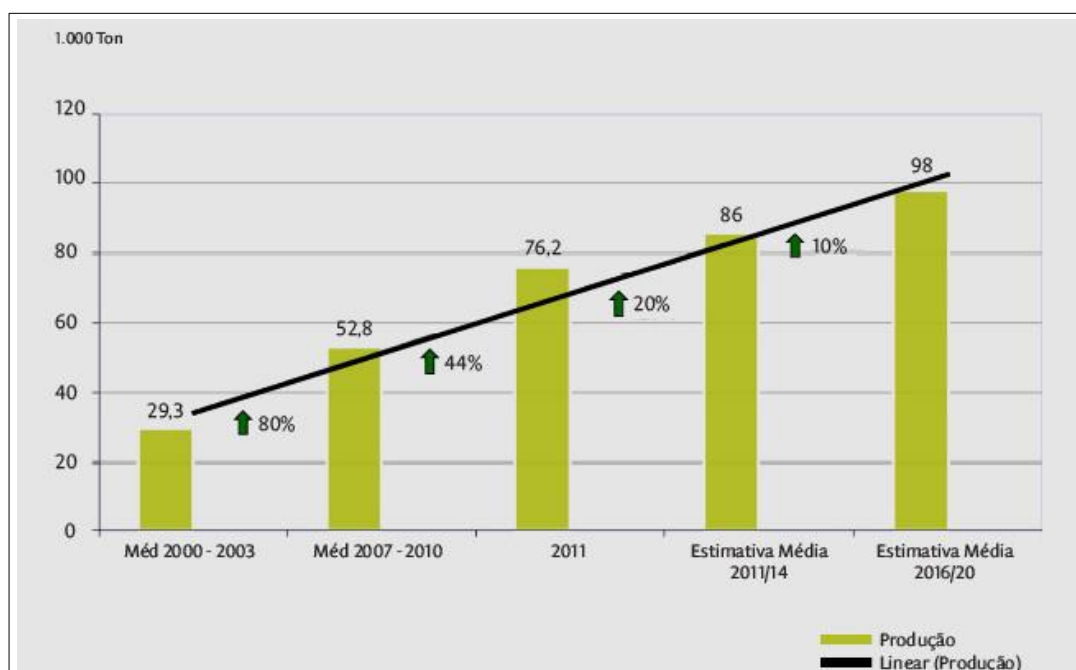
Figura 3 Azeite Extraído por Região na Última Campanha (2017/18)



Fonte: (GPP-Gabinete de Planeamento, 2018)

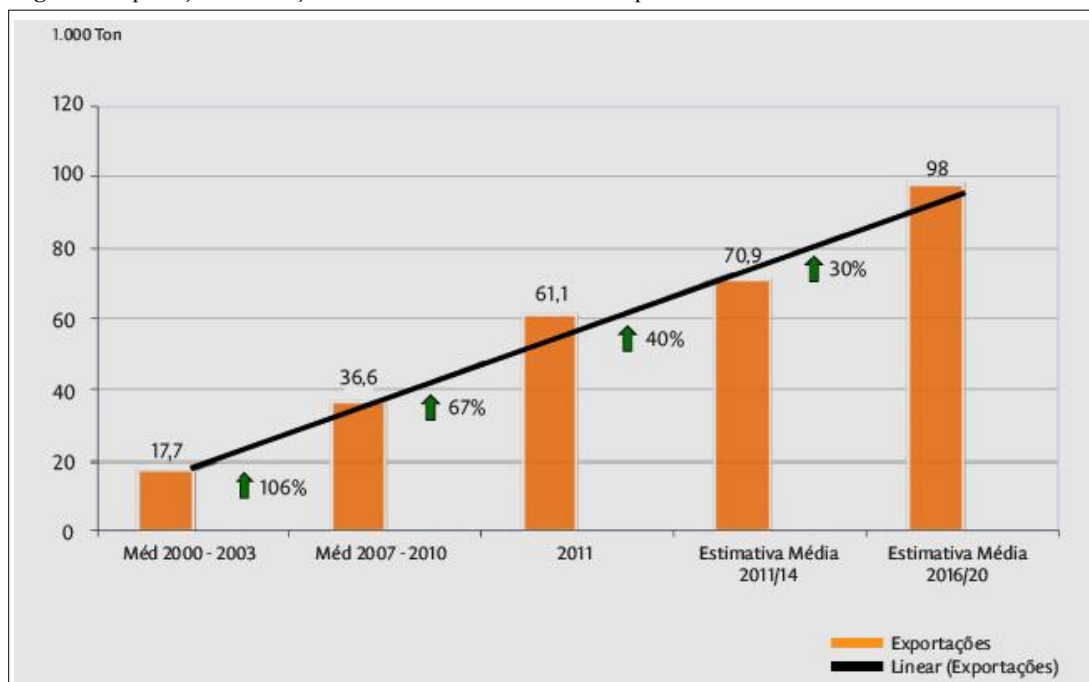
Até 2020 as projeções são de aumento, tanto para a produção como para exportações, sendo que desde 2016 a 2020 o setor cresce a um ritmo mais moderado (na ordem dos 10% ao ano) do que os anos anteriores, em que a taxa era maior. Estas projeções são observáveis nas seguintes figuras (4 e 5):

Figura 4 Produção: Evolução Recente e Tendência Estimada para o Horizonte 2020



Fonte: Casa do Azeite in Expresso

Figura 5 Exportações: Evolução Recente e Tendência Estimada para o Horizonte 2020



Fonte: Casa do Azeite in Expresso

2.3. A AZEITONA

A azeitona é uma drupa de forma oval mais ou menos alongada ou arredondada, de acordo com a cultivar. É constituída pelo epicarpo (parte externa) que representa 1,5% - 3% do peso total, o mesocarpo ou polpa 65% - 83%, o endocarpo ou caroço 15% - 30% e a semente ou amêndoa 1,5% - 5%. (Curci, 2001)

O peso do fruto é variadíssimo, oscilando entre 1,5 e 12g (Baer I. , 2006), embora nas variedades para obtenção de azeite os valores se situem, normalmente, entre 1,5 e 5g (Ruiz, et al., 1991).

De acordo com (Curci, 2001), a composição química da drupa pode resumir-se da seguinte maneira:

- Água: 50%
- Lípidos: 18%-25%
- Proteínas: 1,6%
- Hidratos de Carbono: 19% - 20%
- Fibra: 5% - 6%
- Cinza: 1,5%

As azeitonas, inicialmente são de cor verde, passam depois a verde amarelado, amarelo esverdeado, violáceas ou violetas e depois encetam o processo de enegrecimento de fora para dentro, até ficarem totalmente negras (Böhm).

Quando verdes, os pigmentos predominantes são as clorofilas e, quando mais maduras as azeitonas, as clorofilas vão sendo substituídas por carotenos e xantofilas (Böhm).

A maturação da azeitona ocorre durante um período de vários meses. A acumulação de azeite começa cerca de 40 a 50 dias após a floração e continua, rapidamente, até ao amadurecimento do fruto; depois abranda mas não pára. Durante o processo de maturação dão-se várias alterações no fruto, tanto físicas como químicas. Estas alterações variam de acordo com a cultivar, clima e condições de crescimento da azeitona: o perfil dos ácidos gordos modifica-se, o teor de polifenóis diminui, o perfil de polifenóis altera-se e o teor de clorofila reduz-se. As alterações nestes componentes são comercialmente relevantes uma vez que têm um efeito significativo na estabilidade e nas características sensoriais dos azeites extraídos. (Ayton, Haigh, Tronson, & Mailor, 1995)

De acordo com Hermoso et al, (1998), citado por Baer, (2006), durante o período de maturação existem variações na composição dos frutos, responsáveis pela diminuição da estabilidade dos azeites que originam:

- Diminuição da relação de ácidos gordos monoinsaturados / ácidos gordos polinsaturados: a composição ácida evolui observando-se uma diminuição na proporção de ácido palmítico e um aumento de percentagem de ácido linoleico, permanecendo constante a proporção de ácido oleico;
- O conteúdo de polifenóis varia, com um máximo que geralmente coincide com o momento em que se alcança o máximo de quantidade de azeite no fruto;
- o conteúdo de tocoferóis diminui ao longo do período de maturação e o conteúdo total de esteróis também tem tendência a diminuir.

2.4. O AZEITE

O vocábulo azeite advém do termo árabe ‘az-zait’ que significa sumo de azeitona, que conserva o aroma, sabor, vitaminas, antioxidantes e todas as propriedades do fruto de que procede (Böhm).

A diferença entre o azeite virgem e outros óleos vegetais comuns está relacionada com o facto de o azeite virgem ser obtido por processos físicos, maioritariamente por meio de processos de pressão a frio ou centrifugação, sem serem submetidos a refinação mantendo

uma maior quantidade de importantes componentes bioativos provenientes das azeitonas (Casal *et al.*, 2010).

2.4.1. CLASSIFICAÇÃO DO AZEITE

O azeite virgem define-se como o sumo obtido exclusivamente a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros processos físicos – em condições que não alteram o azeite – e que não tenham sofrido outros tratamentos além da lavagem, da decantação, da centrifugação e da filtração, com exclusão dos azeites obtidos com solventes, com adjuvantes de ação química ou bioquímica ou por processos de reesterificação e de qualquer mistura com óleos de outra natureza, designa-se por Azeite Virgem (Regulamento UE nº1348/2013 da comissão de 16 de dezembro de 2013).

Segundo o regulamento UE nº1348/2013 da comissão de 16 de dezembro de 2013, a classificação do azeite é feita, usando uma árvore de decisão com base na percentagem de acidez, no índice de peróxido, nos índices espectrofotométricos K_{232} e K_{270} e na análise sensorial (Tabela 1).

Tabela 1 Categorias para classificação do azeite virgem

Categoria	Acidez (% ác. Oleico)	Índice Peróxidos (meq O₂/kg)	K₂₃₂	K₂₇₀	ΔK	Exame org. Mediana dos defeitos	Exame org. Mediana do frutado
Azeite Virgem Extra	≤0,8	≤20	≤2,5	≤0,22	≤0,01	Md = 0	Mf > 0
Azeite Virgem	≤2,0	≤20	≤2,6	≤0,25	≤0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
Azeite Lampante	>2,0	>20	>2,6	>0,25	>0,01	Md > 3,5	-

Fonte: Regulamento de execução (UE) nº 1348/2013 da comissão de 16 de dezembro de 2013 que altera o Regulamento (CEE) nº 2568/91, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados.

2.4.2. A QUALIDADE DO AZEITE

Segundo Gould (1992), a qualidade pode ser definida como ‘a combinação de atributos ou características de um produto que têm significado na determinação do grau de aceitabilidade do produto pelo consumidor’. A qualidade do azeite pode ser definida de uma perspectiva nutricional, comercial ou organolética. O valor nutricional do azeite deve-se à quantidade elevada de ácido oleico e a componentes minoritários, tais como

compostos fenólicos, enquanto que os compostos voláteis têm maior influência no aroma. O valor nutricional e o sabor agradável contribuíram para o aumento do consumo de azeite, levando ao cultivo de oliveiras fora da região tradicional de produção, a área mediterrânica. Nas novas zonas, fatores como adaptabilidade das variedades e diferentes condições climáticas e práticas agrícolas podem alterar a qualidade do azeite. (Kalua et al, 2007)

A variedade de azeitona utilizada é o fator principal que determina as características e a qualidade do azeite. O clima, o solo e a latitude também são fatores importantes, podendo a mesma variedade ter características diferentes conforme seja e onde seja cultivada. O estado de maturação das azeitonas na altura da colheita, o método de colheita da azeitona, o transporte para o lagar, o tempo de espera para o processamento da azeitona, o equipamento e a temperatura de extração e condições de armazenamento e acondicionamento são outros fatores que influenciam as características do azeite, bem como a higiene ao longo de todo o processo. Outros fatores que actuam durante a comercialização do azeite e em casa do consumidor também influenciam a qualidade do azeite (Cooperativa Agrícola dos Olivicultores de Murça, 2018).

Nos regulamentos da Comissão Europeia e do Conselho Oleícola Internacional são definidos quatro parâmetros que permitem avaliar a qualidade do azeite: percentagem de acidez, índice de peróxido, índices espectrofotométricos no UV (k270 e k232) e análise sensorial. A estabilidade à oxidação é um requisito importante excluído dos regulamentos da União Europeia e do Conselho Oleícola Internacional. Essa oxidação pode, posteriormente, levar à perda da classificação de azeite extra virgem. Alguns parâmetros não incluídos nos regulamentos da EU e do Conselho Oleícola Internacional, tais como o teor de compostos fenólicos têm um efeito significativo na estabilidade e nas características sensoriais do azeite. O perfil de compostos fenólicos pode ser seguido desde a azeitona até à produção e armazenamento do azeite, podendo ser usado como um bom indicador da sua qualidade (Kalua et al, 2007).

2.4.3. A COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O azeite virgem extra (AVE) é considerado um produto que possui vastas propriedades nutricionais as quais se encontram intimamente relacionadas com a sua complexa composição química. É de salientar que os fatores agronómicos, tais como a rega, a fertilização, a poda, as práticas agrícolas relacionadas com a produção, colheita, o

transporte e o armazenamento da azeitona, assim como, os fatores geográficos e climáticos, a variedade e o estado de maturação da azeitona podem ter uma influência bastante significativa na composição química do AVE. Outros fatores que poderão ainda provocar alterações na composição química do AVE são os que se encontram relacionados com a obtenção deste produto, tais como o método de extração utilizado e o tipo de equipamentos, assim como, as condições de transporte e armazenamento. (Dias, 2009)

Quimicamente, os componentes do azeite podem dividir-se em duas frações, uma saponificável (fração maioritária), a qual permite a formação de sabões (sais de sódio e/ou potássio) por hidrólise em meio alcalino e, outra, insaponificável (fração minoritária). A fração saponificável constitui cerca de 97 a 99% do peso total do azeite, sendo composta maioritariamente por triglicéridos e uma pequena fração de di e mono gliceróis, fosfolípidos e de ácidos gordos livres, os quais são responsáveis pela acidez do AVE. A fração insaponificável é solúvel em água e representa cerca de 2% da massa total de azeite sendo composta por um conjunto muito variado de substâncias tais como ceras, álcoois alifáticos, hidrocarbonetos, pigmentos, compostos fenólicos, vitaminas, esteróis, tocoferóis, compostos voláteis e aromáticos. Apesar de constituírem a fração minoritária no AVE, a presença destas substâncias tem elevada importância, tanto do ponto de vista nutricional como em aspetos relacionados com a estabilidade e a qualidade organolética do produto final. Dada a sua elevada especificidade, os componentes minoritários são muitas vezes usados como critério de qualidade e de autenticidade. (Boskou, 1998; Garcia *et al.*, 2005)

Nas secções seguintes será descrita em detalhe a composição química da fração saponificável e insaponificável do azeite virgem e de que forma os componentes dessas frações se encontram relacionados com alguns parâmetros da qualidade.

2.4.3.1. FRAÇÃO SAPONIFICÁVEL

ÁCIDOS GORDOS

O AVE é um óleo vegetal que se diferencia de os outros devido ao seu elevado teor em ácidos gordos monoinsaturados. O conteúdo em ácidos gordos livres é reduzido e variável, dependendo sobretudo da qualidade da matéria-prima. Os ácidos gordos livres na presença de glicerol, álcoois e terpenos, formam respetivamente triglicéridos, ceras e ésteres de terpenos ou ésteres de esteróis. Os azeites não contêm, ou contêm em pequenas

quantidades, ácidos gordos ramificados, com número ímpar de carbonos ou mesmo ácidos gordos com menos de 16 e mais de 20 átomos carbonos. (Harwood & Aparício, 1999) Os ácidos gordos maioritários são os ácidos Palmítico, Esteárico, Oleico, Linoleico e Linolénico (Tabela 2).

Tabela 2 Composição do azeite virgem extra em ácidos gordos

Ácido Gordo	Número de átomos de carbono e número de ligações duplas	Limites aceites
Oleico	C18:1	55,0-83,0
Palmítico	C16:0	7,5-20,0
Linoleico	C18:2	3,5-21,0
Esteárico	C18:0	0,5-5,0
Palmitoleico	C16:1	0,3-3,5
Linolénico	C18:3	≤ 0,1
Lignocérico	C24:0	≤ 0,2
Araquidico	C20:0	≤ 0,6
Beénico	C22:0	≤ 0,2

Fonte: Regulamento de execução (UE) nº 1348/2013 da comissão de 16 de dezembro de 2013 que altera o que altera o Regulamento (CEE) nº 2568/91, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados.

O facto de o AVE ser constituído, maioritariamente, por ácido oleico faz com que ocupe uma posição ímpar, relativamente aos outros óleos vegetais, uma vez que este ácido é menos suscetível à oxidação do que os ácidos linoleico e linolénico (Owen *et al.*, 2000).

A composição em ácidos gordos difere de amostra para amostra, dependendo da zona de produção, da altitude, do clima, da variedade, e do estado da maturação dos frutos (Boskou, *et al.*, 2006). Por exemplo, o ácido linoleico, que é especialmente propício à reação de oxidação, tende a ser superior em azeites provenientes das regiões mais quentes da zona mediterrânica, em relação a azeites de outras áreas (Owen *et al.*, 2000).

TRIGLICÉRIDOS

Os principais componentes, na fração saponificável, são os triglicéridos. Os triglicéridos são tri-ésteres derivados da união do glicerol (um tri-álcool) com ácidos gordos, no qual os grupos funcionais do glicerol (grupos hidroxilo) reagem com o ácido carboxílico dos ácidos gordos. Assim, um triglicérido é formado por um conjunto de três ácidos gordos ligados a uma molécula de glicerol (Sánchez, *et al.*, 2001), sendo o mais abundante a trioleína (Tabela 3).

Tabela 3 Triglicéridos mais abundantes no AVE

OOO	Trioleína	40	- 59%
POO	Palmitodioleína	12	- 20%
OOL	Linoleodioleína	12.5	- 20%
POL	Palmitooleolinoleína	5.5	- 7%
SOO	Estearodioleína	3	- 7%

Fonte: Boskou, 1996

2.4.3.2. FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL

Esta fração menor, solúvel em água, é a principal responsável pelo valor biológico e nutricional do azeite, pelas suas características organoléticas e, ainda, pela sua resistência à oxidação (Baer I. , 2006).

HIDROCARBONETOS

Podem ser de natureza terpénica, esterólica ou policíclica aromática (Sánchez, *et al.*, 2001). O esqualeno e o β -caroteno são os hidrocarbonetos terpénicos mais abundantes no azeite. A presença de esqualeno no azeite é considerada como parcialmente responsável pelos efeitos benéficos para a saúde e a sua ação quimiopreventiva contra certos tipos de cancro (Boskou, *et al.*, 2006). Representa 40% do peso total da fração insaponificável (Sánchez, *et al.*, 2001) e 90% dos hidrocarbonetos (Boskou, *et al.*, 2006). O β -caroteno, um dos responsáveis pela cor do azeite, é um terpeno de 40 átomos de carbono com concentrações de 0,5 a 4 mg/kg de azeite (Sánchez, *et al.*, 2001). Os hidrocarbonetos de natureza esterólica existem em pequenas quantidades no azeite (<0,5 mg/kg), sendo que a sua presença é associada a processos de refinação. Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são muito residuais (1 a 700 μ g/kg) (Tiscornia, *et al.*, 1982). O composto mais significativo é o estigmastadieno formado pelos processos de refinação a partir do β -sitosterol (Sánchez, *et al.*, 2001).

TOCOFERÓIS E TOCOTRIENÓIS

São antioxidantes de natureza fenólica, quase sempre na forma livre, mas podendo apresentar-se sob a forma esterificada com um ácido gordo (Baer I. , 2006). Os mais importantes são os fenóis lipofílicos, que são compostos por um anel 6-cromonol e uma cadeia lateral isoprenóide na posição 2. Podem contribuir para a estabilidade oxidativa dos azeites, pois têm um papel biológico importante como antioxidante, no entanto a sua ação na resistência à oxidação não é evidente. Os Tocotrienóis apresentam três insaturações na cadeia lateral, nas posições 3, 7, e 11, distinguindo-se assim dos tocoferóis. Assim, existem 8 compostos, designados por α -, β -, γ - e δ -, sendo que o α -

tocoferol representa 90 a 95% do total de vitamina E (Sánchez, *et al.*, 2001). Este valor está dependente da cultivar, de fatores agronômicos e também de fatores tecnológicos. A melhoria das condições de extração do azeite e a implementação de programas de Boas Práticas de Fabrico tiveram um impacto positivo importante no teor de tocoferóis dos azeites, sendo que atualmente os teores observados nos azeites são superiores aos verificados no passado, rondando os 100 mg/kg de azeite. (Belitz, *et al.*, 2009)

COMPOSTOS FENÓLICOS

Estão identificados como sendo responsáveis pela maior parte das propriedades antioxidantes dos azeites virgens. Estes compostos proporcionam ao azeite virgem extra (AVE) características únicas, uma vez que não se encontram em qualquer outro óleo vegetal. (Boskou, 1996) A composição fenólica dos AVE é bastante complexa e a sua concentração média depende de vários fatores, como por exemplo, estado de maturação, cultivar, condições de armazenamento, condições climáticas e do tipo de tecnologia utilizada na sua produção (Boskou, 2008). Estes compostos encontram-se divididos em diferentes categorias, tais como os ácidos fenólicos, álcoois fenólicos, secoiridóides, flavonas e lignanas (Servili, *et al.*, 2004). O grupo dos ácidos fenólicos, presente em pequenas quantidades, foi o primeiro a ser descrito no AVE, e divide-se em dois tipos – benzóico e cinâmico. O grupo dos álcoois fenólicos é composto maioritariamente pelo hidroxitirosol e tirosol (Bianco, *et al.*, 1998). Os secoiridóides, juntamente com as lignanas, são os mais abundantes no AVE, e apresentam-se na forma dialdeída do ácido decarboximetil elenóico ligado ao hidroxitirosol ou tirosol, isómero das agliconas das oleuropeína (princípio amargo da azeitona encontrada no AVE) e ligstrosídeo (Servili, *et al.*, 2004). A oleuropeína, altamente concentrada na azeitona verde, é hidrolisada durante a maturação e durante o armazenamento após a colheita, produzindo várias moléculas mais simples, que caracterizam o sabor rico e complexo do AVE. AVE ricos em compostos fenólicos são de uma maneira geral amargos e picantes. Na verdade, interações complexas entre os constituintes da fração insaponificável resultam em AVE com adstringência e amargor, por vezes excessivos e desagradáveis como no caso dos AVE resultantes de azeitonas demasiado verdes. Geralmente os AVE extraídos de azeitonas em estados de maturação menos avançados obtêm melhores classificações devido ao seu aroma ‘frutado’, ‘floral’ e complexo, oriundo do seu alto teor de fenóis. Em síntese, os elevados níveis de fenóis conferem aos azeites uma elevada estabilidade e um sabor

frutado forte (Visioli, *et al.*, 2006). Por último, podem ser encontradas diferentes tipos de flavonas, tais como apigenina ou luteolina (Servili, *et al.*, 2004).

O hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol ou 3,4-DHPEA) e o tirosol (p-hidroxifeniletanol ou p-HPEA) são os álcoois fenólicos mais abundantes no AVE (Figura 6). O acetato de hidroxitirosol e o glicosídeo do hidroxitirosol também estão presentes na fração fenólica hidrofílica (Servili *et al.*, 2004).

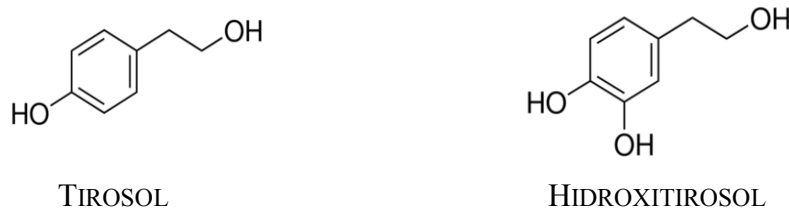


Figura 6 Estrutura química dos principais compostos fenólicos presentes no azeite (Baer, 2015)

CLOROFILAS E CAROTENÓIDES

São as principais substâncias corantes no azeite virgem extra. Os carotenóides são polisoprenóides de hidrocarbonetos, álcoois ou ácidos carboxílicos e são solúveis nos óleos. Contém um número considerável de ligações duplas conjugadas, o que lhes confere a cor amarela, laranja ou vermelha. Compreendem quatro grupos principais: os carotenos (hidrocarbonetos da série C₄₀), as xantofilas (derivados hidroxilados ou cetônicos) e, ainda, os ácidos carotenóides e os ésteres xantofílicos. Os carotenóides mais importantes são o α , o β , β -carotenos e o licopeno, todos com a fórmula molecular C₄₀H₅₆ (Baer I. , 2006).

Os pigmentos verdes do AVE identificam-se como clorofilas. Contém o chamado núcleo porfirínico, com um átomo de magnésio no centro. Este núcleo é constituído por quatro anéis pirrólicos azotados, complexados com magnésio e, ainda, com dois grupos éster. As clorofilas apresentam-se nas formas a e b, que se degradam com certa facilidade, dando lugar às respectivas feofitinas a e b (Baer I. , 2006).

A clorofila apresenta uma coloração verde tanto mais intensa quanto menos avançado é o estado de maturação das azeitonas. No entanto, durante a conservação do AVE a clorofila degrada-se perdendo esta cor verde e tornando-se mais amarelado. Na ausência de luz a clorofila tem uma ação anti-oxidante, atuando em sinergia com os compostos fenólicos e inibindo a etapa inicial da auto-oxidação (Méndez, 2007). Na presença de luz, mesmo que difusa, tem uma ação pró-oxidante, uma vez que tem a

capacidade de transferir energia da luz para o oxigênio que reage com os ácidos gordos insaturados, acelerando a oxidação. Os carotenóides são responsáveis pela cor amarelo/alaranjado do AVE. São geralmente inibidores da foto-oxidação, aceitando energia do oxigênio singlete. O carotenóide mais abundante no AVE é o β -caroteno (Curci, 2001).

Os carotenóides são compostos lipossolúveis sensíveis à luz e ao oxigênio. Na ausência destes fatores, os carotenóides são estáveis nos alimentos, mesmo a temperaturas elevadas. A sua degradação é acelerada pelos radicais livres que se formam durante a oxidação lipídica (Silva, 2008).

A cor do AVE pode assim variar entre o dourado claro e o verde intenso, dependendo da combinação e da proporção entre os pigmentos clorofilinos e carotenóides.

Na Figura 7 apresentam-se as estruturas dos principais pigmentos presentes no azeite.

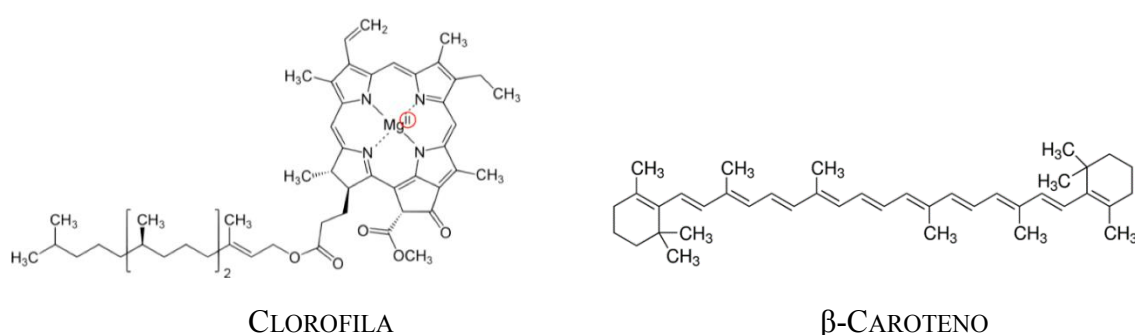


Figura 7 Estrutura química das moléculas de clorofila e β -caroteno (Baer, 2015)

ÁLCOOIS ALIFÁTICOS E TRITERPÊNICOS

Os álcoois gordos são compostos lineares saturados com mais de 16 átomos de carbono. Estes tipos de álcoois encontram-se na forma livre e esterificada. Os mais importantes são os álcoois gordos e os álcoois diterpênicos (Reiter & Lorbeer, 2001). Os principais álcoois gordos presentes no azeite são o dicosanol (C22), tetracosanol (C24), hexacosanol (C26) e octacosanol (C28). Álcoois com número ímpar de carbonos estão presentes em quantidades vestigiais. Estes compostos não excedem, geralmente, os 350mg/kg de AVE. O teor de álcoois gordos é afetado pela cultivar, condições ambientais, índice de maturação e processamento (Sánchez, *et al.*, 2001). Álcoois como o fitol e o geranilgeraniol são diterpenóides acíclicos presentes na fração de álcoois alifáticos do azeite sob a forma livre e esterificada (Reiter & Lorbeer, 2001). Dois dos principais

álcoois triterpénicos identificados são os diálcoois triterpénicos eritrodiol e uvaol. Os álcoois triterpénicos variam de 500 a 3000 mg/kg (Ramírez-Tortosa, *et al.*, 2006). Os teores de eritrodiol e uvaol são usados como parâmetros de qualidade. Um teor muito elevado destes diálcoois triterpénicos é um indicativo de azeites obtidos por solventes (Angerosa, *et al.*, 2006). Segundo o regulamento de execução (UE) n.º 1348/2013 da comissão de 16 de dezembro de 2013, o limite máximo de eritrodiol e uvaol é de 4,5% para todas as categorias comerciais de azeite.

ESTERÓIS

Os compostos esterólicos são álcoois tetracíclicos biossintetizados a partir do esqualeno. Os esteróis estão presentes no azeite como álcoois livres e como ésteres de ácidos gordos (Firestone, 2005). O principal esteroide presente no azeite é o β -sitosterol com um teor igual ou superior a 93%, e em menor quantidade o estigmasterol, colesterol, 24-metilenocolesterol, $\Delta 7$ - campesterol, $\Delta 5,23$ -estigmastadienol, closterol, sitostanol, $\Delta 5,24$ estigmastadienol, $\Delta 7$ - estigmastenol e $\Delta 7$ -avenasterol (Sánchez, *et al.*, 2001).

A quantidade de esteróis pode ser usada para identificar a origem e também a pureza de um azeite. A diminuição dos esteróis durante o armazenamento tem sido associada ao aumento do valor de peróxidos (Ramírez-Tortosa, *et al.*, 2006).

FOSFOLÍPIDOS

Fosfolípido é o termo genérico que se refere a qualquer lípido que contenha um grupo fosfato. Estão identificados como tendo atividade antioxidante. O ácido oleico é o ácido gordo predominante na estrutura dos fosfolípidos, e o seu padrão de ácidos gordos é similar à dos triglicéridos (Sánchez, *et al.*, 2001). A fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol e fosfatidilserina estão identificadas como sendo os principais fosfolípidos encontrados no AVE (Alter & Gutfinger, 1982). Mais recentemente, o ácido fosfatídico e o fosfatidilglicerol, foram identificados e quantificados por cromatografia líquida – espectroscopia de massa (GCMS) (Boukhchina, *et al.*, 2004).

2.5. EXTRAÇÃO DO AZEITE

A qualidade dos azeites nasce no campo e, como se trata de verdadeiro sumo de fruto, é importante que os métodos de extração, que incluem apenas operações mecânicas ou físico-mecânicas, se efetuem em condições térmicas e de higiene que não induzam alterações na sua composição (Böhm).

As azeitonas maduras têm na sua constituição açúcares, proteínas, ácidos orgânicos, sais minerais, nomeadamente potássio, celuloses, hemiceluloses, água e azeite. A película contém substâncias cerosas, a pruína, que aparecem no azeite em pequena percentagem por não serem removidas pelas operações físico-mecânicas de extração do azeite. As azeitonas são então constituídas por uma fase sólida (cerca de 30%), o bagaço de azeitona, e por duas fases líquidas, uma aquosa (cerca de 40 a 60%, a água de vegetação) e outra oleosa (cerca de 20%, o azeite). Qualquer que seja o sistema de extração do azeite, o objetivo é sempre separar, o mais possível, o azeite das outras duas fases. Como se disse, a maior quantidade de azeite (96 a 98%) encontra-se na polpa das azeitona. O restante, 2 a 4%, encontra-se na semente ou amêndoa que está dentro do caroço das azeitonas. Este azeite é mais insaturado, contém mais ácido linoleico, do que o azeite da polpa. Após extração do azeite, o bagaço ainda contém alguma gordura que vai ser extraída, em local próprio, por solvente (hexano), resultando óleo de bagaço de azeitona bruto que, como todos os outros óleos, para ser comestível, tem de ser refinado (Böhm).

2.5.1. MOENDA E TERMOBATEDURA

Para que se consiga fazer a extração das gotículas de azeite de dentro das células da polpa das azeitona e se permita fazer a sua união em gotas de maiores dimensões, os frutos são sujeitos a duas operações que os transformam numa pasta que vai ser batida e ligeiramente aquecida. Trata-se da moenda e da termobatedura. Nalguns métodos de moenda, as enzimas levam à quebra parcial da molécula dos compostos responsáveis pelo amargo e também pelo picante, provocando um aumento do teor de compostos polares menores e tocoferóis, ficando os azeites mais suaves (Böhm).

2.5.2. SEPARAÇÃO DO AZEITE POR CENTRIFUGAÇÃO

Atualmente a extração faz-se, maioritariamente, centrifugando a pasta de azeitona e separando, mais eficazmente, as três fases que constituem os frutos: a fase sólida, o bagaço de azeitona; a fase aquosa, constituída pela água de constituição ou de vegetação das azeitonas e a fase oleosa, ou seja, o azeite. Nestes sistemas de extração contínua, por centrifugação, totalmente automatizados, as três fases podem sair do centrifugador horizontal (decanter) separadas umas das outras e o sistema denomina-se de 3 fases (melhor seria dizer três saídas); ou, pelo contrário, haver apenas, à saída do decanter, bagaço húmido e azeite, tendo este a designação de 2 fases (duas saídas). Neste último sistema, como não há produção de águas russas, há quem o refira como ecológico. O rendimento das azeitonas em azeite, expresso em litros de azeite por 100 quilogramas de

azeitonas, denomina-se funda (Böhm). O azeite separado passa ainda por uma centrifuga vertical onde é adicionada água para arrastar algumas partículas sólidas que ainda tenham ficado em suspensão no azeite.

2.5.3. ARMAZENAGEM E EMBALAMENTO DO AZEITE

Após a extração, os azeites são recolhidos em depósitos de pequena capacidade para se fazer uma primeira avaliação da acidez e das características organoléticas. Isso permite enviá-los, separadamente, para os depósitos de armazenamento na base da qualidade apresentada e detetar possíveis falhas no processo de extração com o consequente aparecimento de defeitos. Com o armazenamento, os azeites sofrem uma lenta mas irreversível e continua deterioração devida a fenómenos, principalmente de oxidação, mas também de fermentação de pequenas impurezas sólidas que passaram nos processos de limpeza e vão sedimentar no fundo dos depósitos, constituindo as borras. Nesse sentido, impõe-se controlar alguns fatores, como o modo de encher os depósitos, sempre de baixo para cima e, depois de se ter tido o cuidado de verificar se estão limpos e sem qualquer cheiro, a luz e a temperatura ambiente, entre 16 e 20°C. O material dos depósitos deve ser inerte. Os depósitos de aço inoxidável, cilíndricos, com fundo cónico, vedados, permitem armazenar os azeites em melhores condições, com a possibilidade de inertizar o espaço de cabeça, minimizando as oxidações, e retirar, por meio de trasfegas, as borras sedimentadas. Depois da armazenagem, o azeite ou é embalado de imediato, após filtração, ou vai ser transportado para novas instalações, em camiões cisterna. Tanto num caso como noutro, tendo o produto final nas melhores condições, não podem ser estas operações a permitir a sua degradação. Os cuidados a ter passam, essencialmente, pela verificação rigorosa das condições de higiene das tubagens, válvulas, cisternas, depósitos, filtros e embalagens. Estas devem ser estanques, inertes para o azeite, invioláveis, contrariando, na medida do possível, as ações da luz, do ar, da temperatura e dos metais. É desejável que a embalagem promova a comercialização, isto é, deve ser resistente, útil, económica, atraente, fácil de abrir e fechar e aconselhe o consumidor nos cuidados a ter em sua casa (Böhm).

2.6. REAÇÕES DE DEGRADAÇÃO DO AZEITE

As gotículas de azeite, na Natureza, estão fundamentalmente dentro das células da polpa das azeitonas, envolvidas por uma biomembrana protectora. Se por qualquer motivo – como, por exemplo, ataques de pragas, nomeadamente mosca, doenças como a gafa ou os métodos de colheita e transporte utilizados –, a biomembrana se romper, o azeite vai

entrar em contacto com a água e reagir com esta numa reação de hidrólise, inversa daquela que lhe deu origem e, portanto, os ácidos gordos libertam-se da estrutura dos glicéridos e são eles, agora livres, os responsáveis pela acidez do azeite. Como nota, para aqueles que afirmam gostar de azeites com mais acidez porque têm mais gosto, os ácidos gordos são praticamente inodoros e insípidos, pouco contribuindo para o cheiro e o sabor dos azeites. Talvez essas pessoas gostem de azeite com defeito porque, em simultâneo com a reação de hidrólise, outras reações de degradação estão-se a dar, como, por exemplo, a oxidação do azeite e a fermentação das azeitonas. (Böhm)

A reação de oxidação, nas formas de auto-oxidação, dependem da maior ou menor exposição dos azeites ao ar e à luz, inicialmente com formação de compostos como peróxidos e hidroperóxidos, de curta duração, que se vão quebrar dando origem a compostos químicos pequenos e, portanto, voláteis que no seu conjunto constituem o ranço. Estes compostos absorvem luz com comprimento de onda de 270nm. (Böhm)

As azeitonas, constituídas em grande parte por matérias fermentescíveis, com grandes cargas microbiológicas e enzimáticas, sempre que tenham um mínimo de condições para tal, encetam processos de fermentação, seguidos de putrefação, conducentes ao aparecimento de defeitos graves de cheiro e sabor (Böhm).

2.6.1. OXIDAÇÃO

O processo de deterioração oxidativa pode seguir vias enzimáticas e/ou químicas. As reações de oxidação podem ocorrer no azeite, quer na ausência de luz (auto-oxidação), que na sua presença (foto-oxidação) (Morales & Przybylski, 2000).

A oxidação lipídica é um dos principais meios de deterioração dos alimentos, e por isso, um desafio para a indústria e cientistas da área alimentar (Shahidi & Zhong, 2005). Esta oxidação envolve reações de interação entre ácidos gordos insaturados e espécies reativas de oxigénio que leva a alterações na aparência, textura, tempo de vida útil, características nutricionais e organoléticas dos alimentos (Paraskevopoulou *et al.*, 2007; Shahidi, 2005). A oxidação é uma reação irreversível e os lípidos são suscetíveis à oxidação quando na presença de (Gouveia, 1995; Shahidi, 2005; Villalta, 1999):

-Oxigénio – O contacto do azeite com o oxigénio é a causas de oxidação do mesmo. Quanto mais tempo o azeite estiver em contacto com o oxigénio maior será o processo de

degradação. Processos como, agitação, trasfegas ou o próprio enchimento do depósito influenciam a oxidação do azeite;

-Luz – Favorece a reação do azeite com o oxigénio;

-Temperatura – Temperaturas elevadas (superiores a 20°C) favorecem a formação de peróxidos e posterior decomposição em aldeídos e cetonas;

-Metais – Produzem um efeito catalisador da auto-oxidação e rancificação do azeite, podendo também conceder um sabor metálico ao azeite.

Os peróxidos são os produtos primários da oxidação do azeite. Os óleos e gorduras como o azeite sofrem um processo de oxidação quando sujeitos à presença de oxigénio, levando à formação de produtos com um sabor e odor desagradável que pode pôr em causa as propriedades nutricionais e sensoriais do azeite. Quando estas reações ocorrem, ácidos gordos essenciais são destruídos (ácido linoleico e linolénico), bem como algumas vitaminas lipossolúveis.

Com temperaturas elevadas a concentração do oxigénio aumenta. A concentração de radicais alcóxido aumenta, em relação à dos radicais peróxidos inicialmente formados e formando-se, também, compostos poliméricos a partir dos radicais alquilo e alcóxido. Com temperaturas baixas ou moderadas, a velocidade de oxidação é baixa. Os hidroperóxidos são os compostos formados em maior quantidade e a sua concentração aumenta até às etapas avançadas da oxidação, quando se decompõem em compostos voláteis minoritários, em particular, em compostos carbonilo que podem modificar o aroma do azeite (Gouveia, “Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”., 1995).

2.6.1.1. AUTO-OXIDAÇÃO

Considerada como sendo a oxidação a baixa temperatura de compostos orgânicos pelo O_2 , envolvendo uma reação radicalar em cadeia. Este tipo de oxidação inicia-se com a formação de hidroperóxidos que sofrem, frequentemente, outras reações. A auto-oxidação pode ser iniciada por resíduos de iões metálicos assim como pela luz ou por iniciadores de radicais comuns. Em certas condições o próprio hidroperóxido sofre uma ruptura, dando origem a radicais $RO\cdot$ + $\cdot OH$ que podem atuar como iniciadores e a auto-oxidação torna-se autocatalítica. (Baer I. , 2006)

Gouveia (1995), ainda afirma que, quando a auto-oxidação de uma gordura é seguida experimentalmente, isto é, medindo a quantidade de oxigénio consumida, verifica-se que na oxidação desenvolve-se lentamente e a uma velocidade uniforme. É o período de indução. Depois, quando a oxidação atinge um determinado valor, a reação entra na segunda fase, muito rápida e a uma velocidade superior à da fase inicial.

A absorção de oxigénio exige a intervenção de radicais livre, o que explica o período de indução da oxidação, até que a concentração daqueles radicais atinja um certo nível (Gouveia, "Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial"., 1995).

De acordo com o mesmo autor, as reações de iniciação que se desenvolvem, então, têm uma energia de ativação elevada (35 a 65 Kcal/mole), o que explica que sejam facilitadas pelas temperaturas elevadas e sobretudo pela luz e por vestígios de metais, como sejam os que fazem parte da constituição das clorofilas.

Quando a oxidação está mais avançada e o teor de peróxidos é superior, a iniciação, dita secundária, resulta essencialmente da decomposição dos peróxidos; esta decomposição pode ser mono ou biomolecular, segundo a concentração de peróxidos. As energias de ativação das reações são elevadas, mas podem baixar por efeitos da luz e de catalisadores metálicos (20 kcal/mole). No caso da decomposição biomolecular, supõe-se que intervenha um dímero de peróxido, desenvolvendo-se a reação com uma energia de ativação de cerca de 25 kcal/mole (Gouveia, "Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial"., 1995).

A baixa velocidade das reações de iniciação constitui muitas vezes o fator limitante da oxidação dos lípidos. A velocidade de oxidação é proporcional à raiz quadrada da concentração em peróxidos. Isto significa que, na prática, pode estabelecer-se uma correlação entre a duração da conservação de um óleo e o teor inicial deste em peróxidos. A maior parte dos processamentos tecnológicos favorece a formação de teores relativamente elevados de peróxidos, pelo que a iniciação secundária é favorecida e a oxidação arranca a grande velocidade (Gouveia, "Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial"., 1995).

O mesmo autor continua a afirmar que, as reações de propagação são, em geral, rápidas, porque os radicais livres, portadores de um electrão não emparelhado, são muito reativos.

A propagação traduz-se por uma oxidação em peróxidos dos lípidos não saturados, em simultâneo com consumo de oxigénio gasoso. Os peróxidos acumulam-se, a princípio, mas o seu teor acaba geralmente por baixar. Se o oxigénio não faltar, a totalidade dos lípidos não saturados pode ser oxidada (Gouveia, “Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”. , 1995).

O aumento do teor de peróxidos durante a propagação, deste que atinja um certo nível, favorece a iniciação. Por outro lado, o número elevado de radicais livres explica a aceleração e o consumo de oxigénio que se observa no fim do período dito molecular. Por isso se diz auto-oxidação, fenómeno em que os peróxidos desempenham o papel de catalisadores (Gouveia, “Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”. , 1995).

Em média, tendo em conta as reações de iniciação e conclusão, cada radical livre provoca a formação de 10 a 100 moléculas de peróxidos (Gouveia, “Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”. , 1995).

Para concluir, Gouveia (1995), refere ainda que podem ocorrer em simultâneo com as reações de iniciação e propagação, também se podem dar reações de finalização, que conduzem ao desaparecimento de radicais livre e à formação de compostos muito diversos.

2.6.1.2. FOTO-OXIDAÇÃO

O mecanismo de foto-oxidação envolve a ação direta de oxigénio singleto ‘oxigénio activado’ aos ácidos gordos insaturados. O oxigénio singleto reage diretamente com as duplas ligações, dando origem aos hidroperóxidos. A forma mais importante de geração de oxigénio singleto é a exposição à luz na presença de um fotosensibilizador, como é o caso da clorofila (Baer I. , 2006).

O processo caracteriza-se pela produção de hidroperóxidos, diferentes daqueles obtidos via auto-oxidação, a partir de ácidos gordos insaturados, sem formação de radicais livres na fase inicial (inexistência da fase de indução), ou seja, por um mecanismo diferente do apresentado pela auto-oxidação. Neste caso, o oxigénio tripleto (pouco reativo) é convertido em presença de um fotocatalisador ou de metais de transição em oxigénio singleto e este reage diretamente na dupla ligação, originando peróxido.

Os peróxidos formados também são degradados em radicais peróxido e estes, uma vez formados, poderão agora propagar a reação com formação de novos radicais R^\bullet e reagir com o abundante 3O_2 (oxigénio tripleto) continuando a reação em cadeia (Gonzalez, P., Mauriz, et al, 2002).

Os pigmentos clorofilinos existentes no azeite e responsáveis pela sua cor esverdeada são constituídos essencialmente pelas clorofilas alfa e beta e pelos seus produtos de degradação, as feofitinas alfa e beta. Estes pigmentos são compostos fotosensibilizadores que, na presença da luz, produzem oxigénio no estado singlete (1O_2). Este oxigénio excitado, é muito reativo e reage cerca de 1500 vezes mais rapidamente com o ácido linoleico do que com o oxigénio atmosférico (Baer I. , 2006).

Os produtos da foto-oxidação dos ácidos gordos insaturados do azeite virgem, são também hidroperóxidos instáveis suscetíveis de se comporem e formarem compostos voláteis, de baixo peso molecular e odor muito penetrante, que provocam o aparecimento do ranço no azeite virgem (Baer I. , 2006).

O efeito sobre os alimentos é inversamente proporcional ao comprimento de onda da radiação: quanto maior é o comprimento de onda, menor é a energia; por isso, os comprimentos de onda mais prejudiciais situam-se na zona no espectro do UV (tanto luz solar como lâmpada fluorescente) (Gouveia, “Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”. , 1995).

A forma mais eficaz e segura para reduzir ao máximo a ação dos raios UV sobre os alimentos sensíveis ao oxigénio, é a utilização de um ou vários dos seguintes processos:

- Utilização de embalagens opacas;
 - Redução da quantidade de luz incidente;
 - Diminuição do teor de oxigénio no interior da embalagem;
- (Gouveia, 1995)

2.6.1.3. OXIDAÇÃO ENZIMÁTICA

A oxidação lipídica pode ocorrer por catálise enzimática, nomeadamente pela ação das enzimas lipoxigenase. Esta enzima atua sobre os ácidos gordos polinsaturados (ácido linoleico e linolénico e seu esteres), catalisando a adição de oxigénio à cadeia hidrocarbonada polinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, os quais podem envolver-se em diferentes reações

degradativas semelhantes às observadas para os processos de auto-oxidação originando diversos produtos. O processo catalise enzimático decorre com maior especificidade, em termos de substrato e de produtos finais do que o processo de auto-oxidação (Gonzalez, P., Mauriz, et al, 2002).

Um aspeto importante da atuação da lipoxigenase, é o que se relaciona com a sua capacidade para co-oxidar substratos (carotenóides, tocoferóis, clorofilas, proteínas) sendo responsável pela iniciação de novos processos oxidativos (Gonzalez, P., Mauriz, et al, 2002).

2.6.1.4. AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES

Por definição, antioxidantes são substâncias capazes de atrasar ou inibir a oxidação de um substrato oxidável. O papel dos antioxidantes é proteger as células do organismo contra a ação oxidante dos radicais livres e podem atuar de várias maneiras:

- a) Atuam sobre a formação de $^1\text{O}_2$ ou reagem com este;
- b) Ligam-se aos radicais livres, impedindo a continuação da reação;
- c) Decompõem os hidroperóxidos;
- d) Complexam os metais.

A atividade antioxidante do azeite virgem é atribuída principalmente a moléculas de estrutura fenólica como:

- Aglicona da *oleuropeína* e *ligstroside* e os seus compostos relativamente hidrolisados (tirosol e hidroxitirosol);
- Tocoferóis;
- Flavonóides.

Os principais antioxidantes do azeite virgem são os carotenos e compostos fenólicos, incluindo fenóis lipofílicos e hidrofílico. Enquanto os fenóis lipofílicos, entre os quais se incluem os tocoferóis, podem ser encontrados em outros óleos vegetais, alguns fenóis hidrofílicos do azeite virgem não estão geralmente presentes em outros óleos e gorduras (Baer I. , 2006).

Os compostos clorofilinos são os principais pró-oxidantes do azeite virgem. No entanto, em determinadas condições podem funcionar como antioxidantes. Já os tocoferóis, mais

concretamente o α -tocoferol, sendo um importante antioxidante, transforma-se em pró-oxidante quando está presente em concentração superior a 1000ppm (Baer I. , 2006).

Embora já não tão importante encontram-se no azeite virgem, outros compostos que manifestam a atividade antioxidante, como por exemplo os fosfolípidos Gouveia (1995).

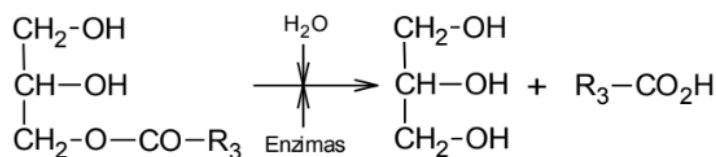
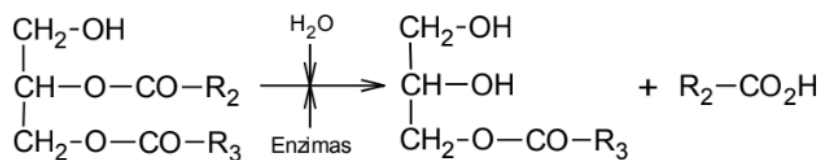
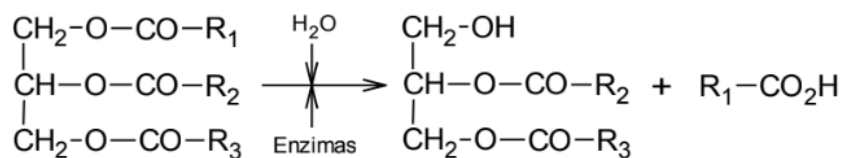
2.6.2. HIDRÓLISE

Do ponto de vista químico, qualquer gordura é composta por triglicéridos, ou seja, ésteres de ácidos gordos e glicerina. A proporção de triglicéridos no azeite é superior a 98%, sendo o resto componentes minoritários, denominados no seu conjunto como matéria insaponificável. Para avaliar os processos hidrolíticos, que dão como resultado ácidos gordos livres e glicerina, temos como determinação fundamental a percentagem de acidez, que não é mais que a percentagem de ácidos gordos livres presentes no azeite (Baer I. , 2006).

Os processos hidrolíticos podem afetar os dois grupos de compostos presentes no azeite – maioritários e minoritários (Alba *et al.*, 2008) – sendo no entanto mais relevante para este trabalho a sua influência no teor de compostos maioritários.

Os triglicéridos são ésteres de ácidos gordos e glicerina, variando o número e tipo de ácidos gordos presentes na molécula. As reações de hidrólise levam à quebra das ligações éster entre os ácidos gordos e a glicerina nas moléculas de triglicéridos. Quando a hidrólise não é completa, obtém-se uma mistura de tri, di e monoglicéridos e glicerina. (COI, 1998)

Esta reação ocorre na presença de água e catalisadores biológicos (enzimas) capazes de ativar os vários centros activos dos triglicéridos (COI, 1998). O esquema da reação encontra-se abaixo ilustrado, sendo que no primeiro passo os produtos da reação são um diglicérido e um ácido gordo livre, no segundo obtém-se, a partir do diglicérido, um monoglicérido e um ácido gordo e por fim, este monoglicérido pode ainda ser decomposto em glicerina e um ácido gordo (Alba *et al.*, 2008):



A extensão das reações de hidrólise é medida pela percentagem de acidez e é dada em percentagem de ácido oleico, por ser o ácido gordo maioritário do azeite (Alba *et al.*, 2008). Estas reações levam à desvalorização e depreciação comercial do azeite, bem como a transtornos fisiológicos que uma acidez elevada pode causar, tornando o azeite menos próprio para consumo alimentar (Granados, 2000 citado por Ribeiro, 2005).

Os três fatores que influenciam as reações de hidrólise são a humidade (hidrólise), a presença de microrganismos (enzimas) e a temperatura (aumentando a energia interna do azeite e, conseqüentemente a energia cinética das moléculas). Desta forma, todos os fatores que provoquem um aumento destes três parâmetros são indutores deste tipo de reação, como por exemplo pragas, armazenamento incorrecto, grau de maturação das azeitonas (influencia a ruptura da epiderme), integridade física do fruto, temperatura das azeitonas, sistema de extração, entre outros (Alba *et al.*, 2008).

2.7. A FILTRAÇÃO

A filtração é especialmente importante como um passo final para remoção de sólidos em suspensão ou humidade, removendo o aspeto turvo e tornando o azeite mais límpido, sendo assim mais atraente ao consumidor. Os sólidos suspensos derivados da azeitona, podem estimular a hidrólise e rancidez no azeite virgem extra (AVE) quando este se encontra armazenado.

Assim a remoção de sólidos suspensos no AVE por filtração pode ser desejável, uma vez que é sabido que após 12 meses de armazenamento, o AVE filtrado pode manter atributos positivos intensos melhor do que o AVE não filtrado, principalmente derivado de uma taxa mais lenta de hidrólise. Por outro lado, a filtração também afeta a cor, os atributos sensoriais e químicos do AVE: frutado, picante e amargo podem diminuir com a filtração, enquanto que os defeitos de ranço podem ser mais pronunciados. A filtração também pode comprometer outros atributos positivos do AVE, reduzindo os níveis de constituintes químicos, tais como os polifenóis (Agbiolab, 2011).

2.7.1. SISTEMAS DE FILTRAÇÃO

Na indústria de extração de azeite virgem são aplicados diferentes sistemas de filtração: sistemas de filtração convencionais (tanques e prensas de filtro) e a filtração de fluxo cruzado (filtração de fluxo tangencial) (Lozano-Sánchez et al, 2012).

Os sistemas de filtração convencionais usam filtros orgânicos e inorgânicos, em conjunto com equipamentos de filtração (depósitos ou prensas), para melhorar ou possibilitar a separação de sólidos suspensos e de moléculas de água. Terras de diatomáceas e fibras de celulose são comumente utilizadas como auxiliares de filtração, que são inseridas na superfície do equipamento de filtração, filtrando misturas especialmente preparadas. Ocasionalmente, podem ser utilizados auxiliares de filtração sem energia, como algodão ou papel de celulose, em vez de terras de diatomáceas e fibras de celulose em prensas de filtro (Lozano-Sánchez et al, 2012).

Os sistemas de filtração tangencial têm sido caracterizados por fluxo perpendicular através da membrana em diversos estudos utilizando AVE e diferentes tipos de membranas à escala de laboratório. No entanto, este procedimento não é difundido na indústria do azeite devido às características, composição e propriedades físico-químicas do AVE (Lozano-Sánchez et al, 2012).

Seguem-se os diferentes tipos de filtro:

FILTROS PARA REMOÇÃO DE HUMIDADE – No AVE com elevado teor de humidade, são utilizadas as tradicionais prensas de filtro, como algodão, papel ou Na_2SO_4 anidro. O processo é realizado antes do armazenamento. O sistema é pressurizado por um fecho hidráulico e o AVE passa através de cada câmara do filtro à medida que a água é removida. O filtro de algodão remove a água mais consistentemente do que os filtros de

papel e os filtros de Na_2SO_4 desidratam mais eficientemente do que os filtros sem ele (Ngai & Wang, 2015).

FILTROS PARA REMOÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS – Em AVE com uma grande quantidade de sólidos suspensos, podem ser utilizadas fibras de celulose. As fibras de celulose têm uma superfície áspera, grande porosidade e comportamento elástico, proporcionando uma estrutura estável com maior fluxo e tempos de ciclo mais longos em comparação com os auxiliares de filtração de minerais (Ngai & Wang, 2015).

FILTRAÇÃO POR MEMBRANA – Frequentemente apropriada para filtrar grandes volumes de AVE, ou azeites virgem extra com elevados níveis de sólidos. O fluxo contínuo sobre a membrana reduz as impurezas. A filtração é feita com um fluxo perpendicular através do filtro, e o processo é suave, com pouca mudança na composição do AVE. O fluido é direcionado a elevada velocidade para a superfície da membrana permitindo fluxos de filtrado elevado (Ngai & Wang, 2015).

FILTRAÇÃO DE GÁS INERTE – O fluxo de gás inerte (nitrogénio ou argónio) gera um movimento circular da massa de AVE que facilita a separação dos sólidos suspensos. O processo evita que materiais orgânicos entrem em contacto com o AVE e é considerado por alguns pesquisadores como um sistema eficaz de filtragem para remoção de água. Além disso, no final do passo de filtração, o AVE já se encontra sob gás inerte fornecendo condições adequadas para prolongar a vida útil do AVE (Ngai & Wang, 2015).

SISTEMA DE FILTRO DE SACO – Este sistema de filtração contém dois compartimentos, um tubo cilíndrico e um saco de filtro de polipropileno. O saco de filtro é introduzido no tubo cilíndrico e o sistema é pressurizado por um fecho hidráulico. O AVE é levado diretamente dos tanques de armazenamento para o equipamento de filtração. O fluido passa através do saco de filtro e os sólidos suspensos são removidos. Ocasionalmente semelhante aos outros sistemas de filtração descritos, vários materiais seleccionados pelo fabricante podem ser usados como auxiliares de filtração para melhorar o processo de filtração. As principais vantagens deste sistema são a sua ampla versatilidade e fácil manutenção, o que permite um ótimo nível de AVE límpido e claro (Ngai & Wang, 2015).

2.7.2. INFLUÊNCIA DA FILTRAÇÃO

A literatura mostra resultados mistos sobre os efeitos da filtração em parâmetros de estabilidade, compostos fenólicos, compostos voláteis, características sensoriais,

aparência, pigmentos e vida útil de prateleira, que podem afetar o azeite positivamente, negativamente ou nada. Alguns estudos mostram que a filtração pode atingir objetivos específicos, como prolongar a vida útil de prateleira, reduzir a humidade e remover sólidos suspensos. Os sólidos suspensos contêm água e enzimas que prejudicam a estabilidade do azeite, aumentam a fermentação e degradam a qualidade sensorial do AVE; removendo esses sólidos, o AVE filtrado tem menos atividade de água, aparência mais clara, menos cor verde e nenhum depósito formado no recipiente de armazenamento. Por outro lado, a literatura também mostra que a filtração pode ter impactos negativos numa variedade de parâmetros, (Tabela 4) (Ngai & Wang, 2015).

Existem ensaios que demonstram que os sistemas de filtração afetam a quantidade e a natureza dos pigmentos no AVE. Em relação aos carotenóides, diferenças são encontradas entre os azeites filtrados e não filtrados. Todos os sistemas de filtração reduzem para metade ou menos o conteúdo testado em azeites brutos. A concentração de clorofila em todos os azeites filtrados é menor do que os não filtrados, talvez porque esses compostos sejam removidos juntamente o subproduto gerado após a filtração (Lozano-Sánchez et al, 2012).

O conteúdo fenólico total tende a aumentar em todos os sistemas de filtração. O aparente aumento pode ser atribuído devido à redução do teor em água. Na emulsão de água em azeite, os polifenóis hidrofílicos são estabilizados ao redor de gotículas de água e a afinidade dos compostos fenólicos à extração por solvente é menor do que a matriz não polar. No entanto, a eliminação parcial da água durante o processo de filtração permite uma maior disponibilidade de polifenóis hidrofílicos para extração com uma mistura de solventes polares. Os fenóis polares totais aparentemente aumentam após a filtração devido à extração em AVE não filtrado e não permitem a recuperação completa desses analitos devido ao maior teor em água (Lozano-Sánchez et al, 2012).

Em resumo, segue abaixo a Tabela 4 de revisão de literatura sobre pesquisas da filtração, onde as questões sobre o facto de filtrar ou não filtrar não são tão simples. A pesquisa carece de consenso em relação a muitos dos efeitos da filtração.

Tabela 4 Efeitos positivos e negativos da filtração nos parâmetros-chave da qualidade do AVE

Parâmetro	Efeitos Positivos	Efeitos Negativos
Estabilidade	Aumenta a estabilidade do AVE, reduzindo a humidade e a acidez gordurosa livre.	Diminui a estabilidade do AVE devido à remoção de sólidos suspensos e exposição ao oxigénio durante a filtração.
Fenólicos	Diminui a taxa de hidrólise que pode afetar a vida útil ao longo do tempo.	Diminui o conteúdo fenólico solúvel em água e os antioxidantes que ajudam a evitar a oxidação.
Voláteis	Elimina compostos voláteis indesejáveis que afetam o aroma do AVE.	Elimina os compostos voláteis desejáveis que afetam o aroma do AVE.
Sensorial	Reduz o ranço do AVE e remove o defeito de sedimento lamacento.	Diminui atributos positivos (frutado, amargo, picante).
Aparência	Contribui para a aparência transparente e clara.	Contribui para uma aparência mais clara e menor intensidade de cor verde.
Pigmentos	Diminui a concentração de pigmento e reduz as reações oxidativas quando exposto à luz.	Diminui a concentração de pigmento e limita a capacidade de capturar radicais livres no escuro.
Vida Útil	Prolonga a vida útil diminuindo a acidez gordurosa livre, a atividade da água, a hidrólise e a fermentação de sedimentos, especialmente se o AVE for armazenado numa temperatura acima do ideal.	Reduz a vida útil devido à diminuição do conteúdo fenólico.

Fonte: Ngai & Wang, 2015

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO LAGAR

As amostras de azeite virgem extra utilizadas neste ensaio foram extraídas e cedidas pelo *Lagar Cartuxa da Fundação Eugénio de Almeida*.

O *Lagar Cartuxa* localiza-se no Concelho de Évora, na Freguesia de São Manços e São Vicente do Pigeiro. Atualmente explora cerca de 400 hectares de olival, sendo as variedades mais cultivadas a Galega, a Cobrançosa, a Cordovil e a Verdeal.

O *lagar Cartuxa* utiliza o sistema contínuo de duas fases para realizar a extração do azeite. Os equipamentos de extração são da marca *Hiller separation and process* (Tabela 5), com assistência técnica da *Centrigucación Alemana S.L.*. Dispõem de duas linhas, uma com capacidade de extração de 450 ton/dia e outra com capacidade de extração de 530 ton/dia.

Tabela 5 Identificação dos equipamentos que se encontram no Lagar Cartuxa para produção de azeite

EQUIPAMENTO	MARCA	MODELO	FUNÇÃO
2 Termobatedeiras	<i>Hiller separation and process</i>	-B-6000 -B-150-CA	Bate e homogeneiza a pasta, aquecendo a mesma progressivamente até aos 28°C.
2 Centrifugas Horizontais / Decanters	<i>Hiller separation and process</i>	-DV450-42-2 -OV530-42.3	Separação sólido-líquido. Separa o azeite do bagaço.
2 Tamizes / Vibrofiltros	<i>Hiller separation and process</i>	-T-200-CA	Elimina algumas partículas estranhas que eventualmente ainda possam estar presentes, vindas da etapa anterior.
2 Centrifugas Verticais	<i>Alfa Laval</i>	-UVPX510AGT/BGT-14	Separação líquido-líquido. Clarifica o azeite, eliminando algumas partículas sólidas e toda a água que tenha vindo do decanter.
Filtro de Terras	<i>Vieirinox</i>	-EMME 5	Filtra o azeite com auxílio de terras de filtração

3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

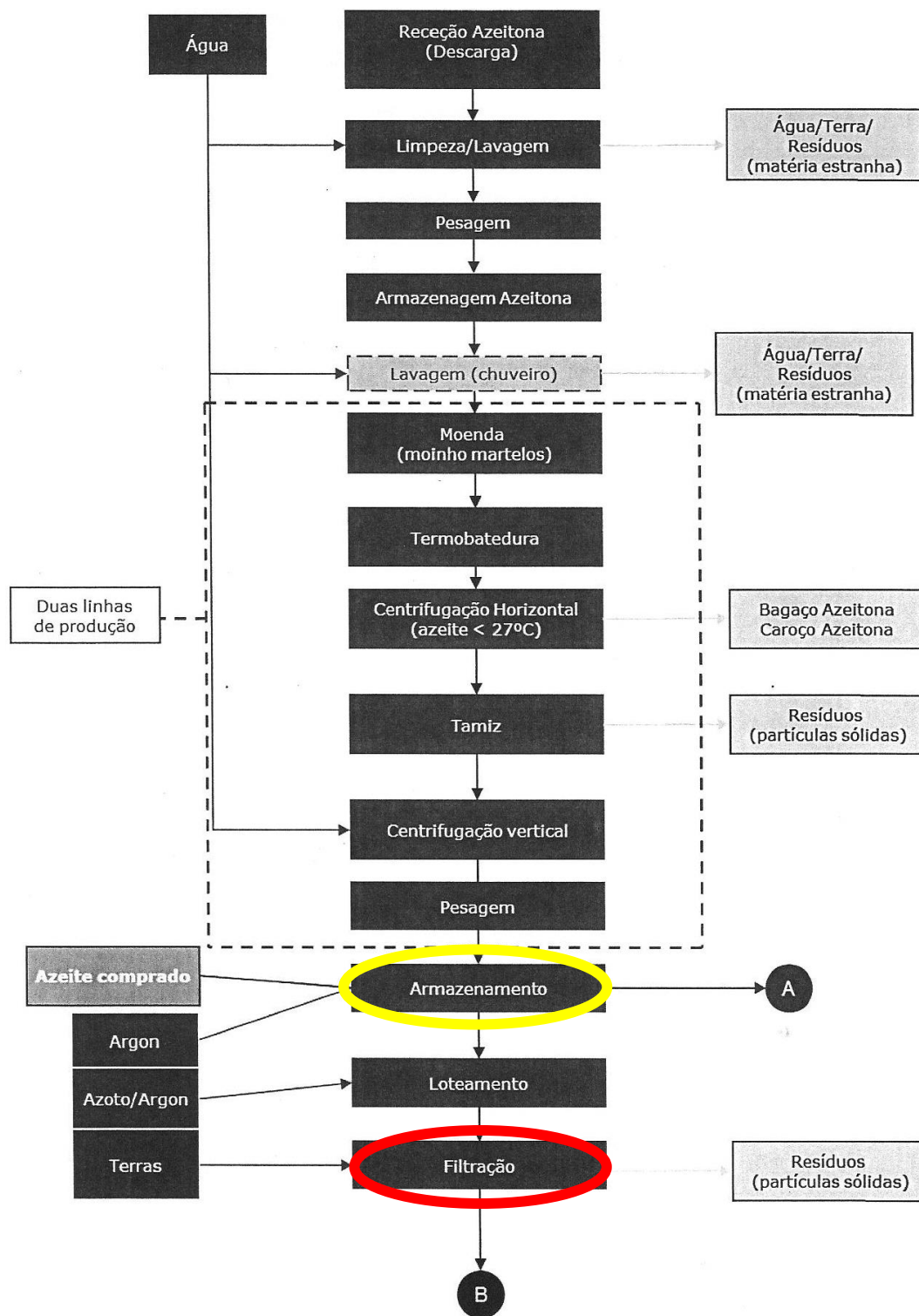
A fase experimental do trabalho foi organizada num único ensaio. De forma a alcançar os objetivos mencionados no capítulo inicial, em Fevereiro, procedeu-se à recolha de amostras de 3 lotes de azeite destinados ao consumo nacional e à exportação, compostos por azeites virgem extra extraídos de diferentes cultivares de azeitonas (Tabela 6). As

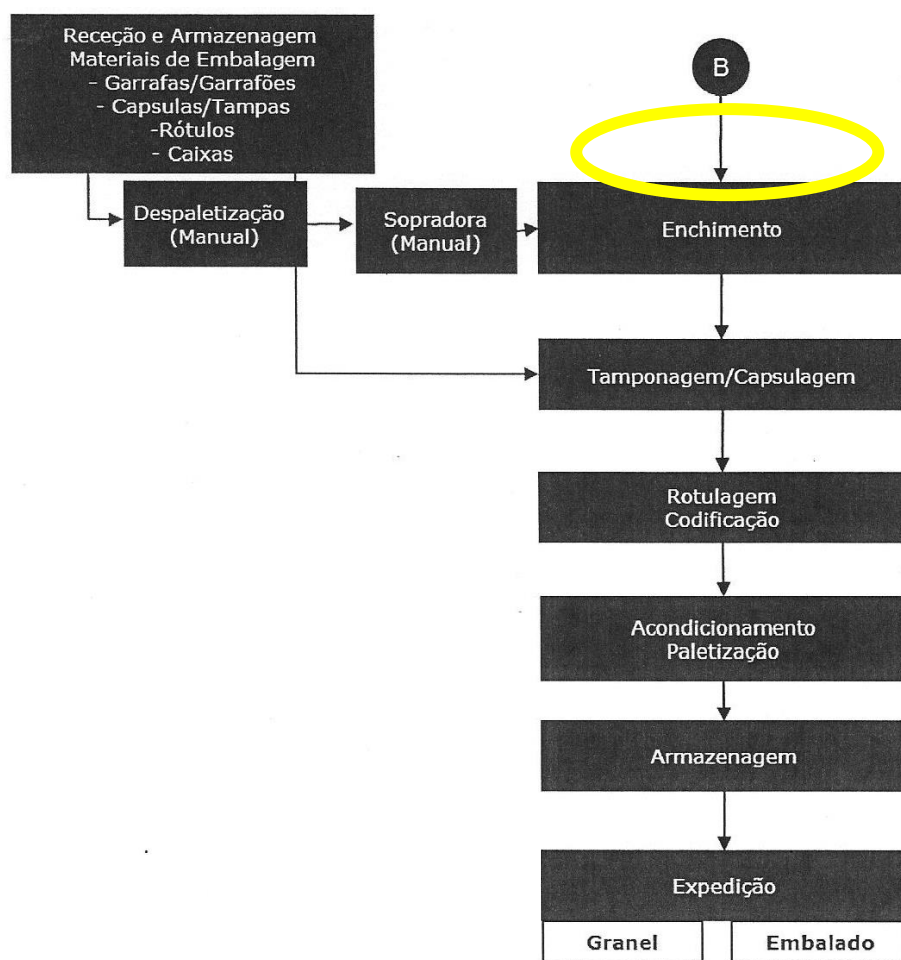
amostras serão sujeitas a diferentes temperaturas e tempos de exposição para prever a possibilidade do embalamento de azeite virgem extra não filtrado para distribuição nacional e também para exportação para o Brasil. Assim, optou-se pelas temperaturas de 17°C (temperatura do armazém onde se encontram os depósitos de armazenamento), de 30°C (temperatura a que poderá estar sujeito o azeite nos pontos de venda, especialmente os lotes para exportação para o Brasil) e de -20°C (temperatura de congelação que servirá como ensaio em branco ao longo do tempo do ensaio). A duração do ensaio foi de 8 meses, tendo-se realizado análises químicas em Fevereiro (início do ensaio), em junho e em Outubro de 2018 para acompanhamento da evolução das amostras.

Tabela 6 Constituição dos lotes de azeite virgem extra do ensaio

Lotes	Variedade	%
Cartuxa	Picual	73
	Cobrançosa	20
	Koroneiki	7
EA3 Nacional	Cobrançosa	53
	Picual	18
	Arbequina	13
	Galega	6
	Redondil	6
	Koroneiki	4
	Cobrançosa	52
EA4 Brasil	Picual	17
	Arbequina	13
	Koroneiki	7
	Cordovil	6
	Galega	5

Para melhor se entender as etapas onde foram recolhidas as amostras, é apresentado na Figura 8 o fluxograma da extração e engarrafamento do azeite da empresa, onde está assinalado a vermelho a etapa em que se foca o trabalho, ou seja a etapa de decisão, onde se optará por filtrar ou não, de acordo com a conclusão do trabalho e a amarelo as etapas onde foram recolhidas as amostras, não filtradas (antes da etapa da filtração - A) e filtradas (B).





Fonte: Fundação Eugénio de Almeida, estudo HACCP, versão 11

Figura 8 Etapas de Extração e Engarrafamento de Azeite no Lagar Cartuxa

Após a recolha das amostras, estas foram divididas para frascos de vidro escuro da seguinte forma:

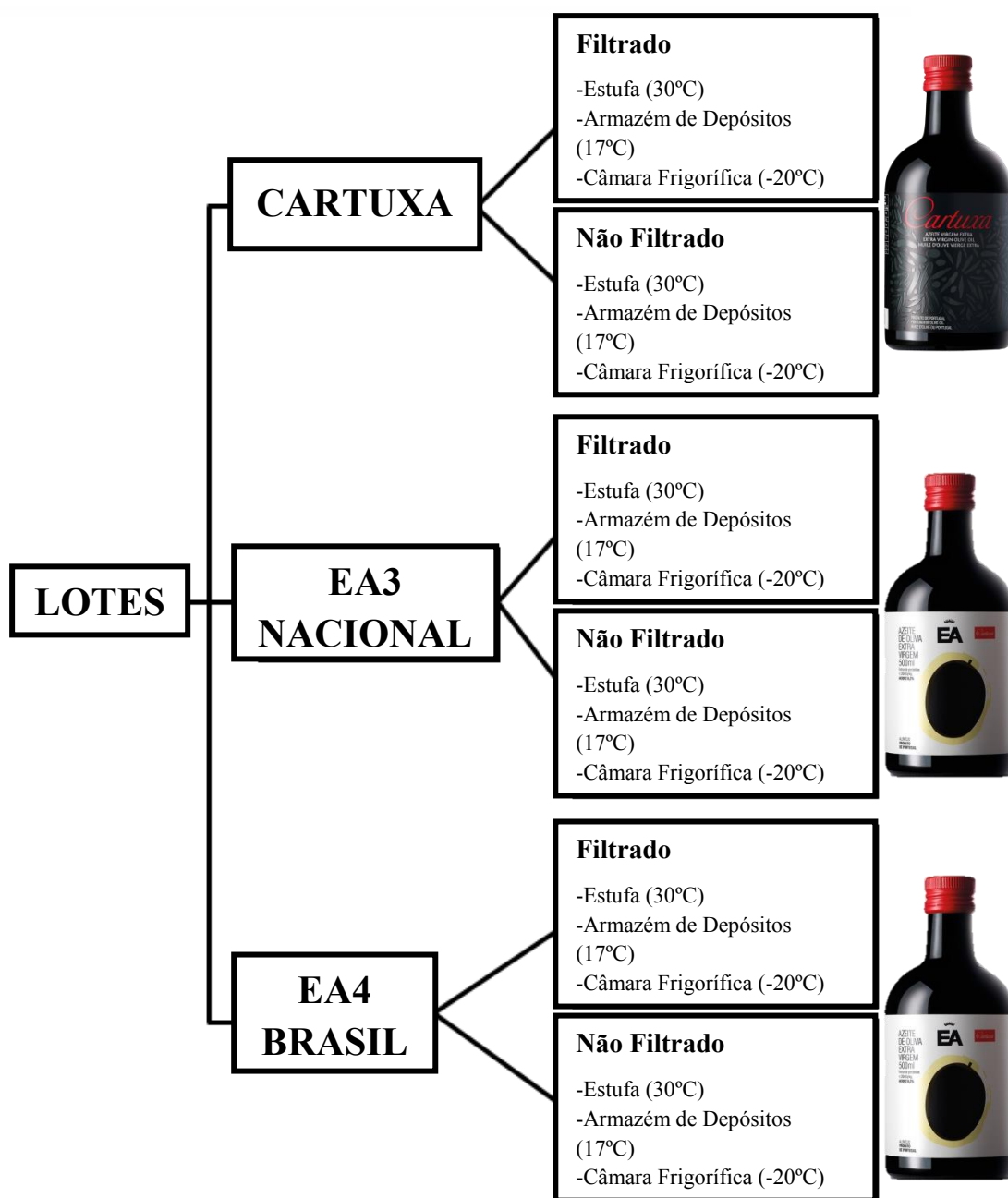


Figura 9 Distribuição e Identificação das amostras em estudo

Obtiveram-se para analisar um total de 24 amostras: 6 iniciais de cada lote, filtradas e não filtradas (no armazém a 17°C) e as restantes 18 distribuídas, de acordo com a Figura 9:

- Estufa (*Selecta Conterm*) – Com uma temperatura a 30°C (Lagar Cartuxa)
- Armazém de Depósitos – A uma temperatura média de 17°C (Lagar Cartuxa)
- Câmara Frigorífica – A uma temperatura de -20°C (IPBeja)

De forma a facilitar a análise estatística, as amostras foram codificadas (Tabela 7 e Tabela 8):

Tabela 7 Significado de cada sigla de acordo com local, lote e filtração

Local	Lote	Filtração
C = Câmara	EA3 = EA3 Nacional	F = Filtrado
D = Armazém de Depósito	EA4 = EA4 Brasil	NF = Não Filtrado
E = Estufa	C = Cartuxa	

Tabela 8 Significado de cada sigla das amostras

Amostra	Designação
C C F	Câmara Cartuxa Filtrado
C C NF	Câmara Cartuxa Não Filtrado
C EA3 F	Câmara EA3 Nacional Filtrado
C EA3 NF	Câmara EA3 Nacional Não Filtrado
C EA4 F	Câmara EA4 Brasil Filtrado
C EA4 NF	Câmara EA4 Brasil Não Filtrado
D C F	Armazém de Depósito Cartuxa Filtrado
D C NF	Armazém de Depósito Cartuxa Não Filtrado
D EA3 F	Armazém de Depósito EA3 Nacional Filtrado
D EA3 NF	Armazém de Depósito EA3 Nacional Não Filtrado
D EA4 F	Armazém de Depósito EA4 Brasil Filtrado
D EA4 NF	Armazém de Depósito EA4 Brasil Não Filtrado
E C F	Estufa Cartuxa Filtrado
E C NF	Estufa Cartuxa Não Filtrado
E EA3 F	Estufa EA3 Nacional Filtrado
E EA3 NF	Estufa EA3 Nacional Não Filtrado
E EA4 F	Estufa EA4 Brasil Filtrado
E EA4 NF	Estufa EA4 Brasil Não Filtrado

As amostras ficaram em estágio por um período de 8 meses (de Fevereiro a Outubro de 2018), efetuando-se análises intercalares para avaliação do comportamento dos AVE. A análise inicial foi realizada no início do mês de Fevereiro; a segunda análise no início do mês de Junho; e a terceira no início do mês de Outubro.

As análises efetuadas em todas as amostras ao longo do tempo foram: percentagem de acidez, índice de peróxidos, k270, ácidos gordos (oleico, linoleico, linolénico e palmítico), polifenóis totais, pigmentos clorofilinos e carotenoides. Todas as amostras foram analisadas em triplicado.

3.3. MATERIAS, EQUIPAMENTOS E MÉTODOS ANALÍTICOS

As amostras de AVE filtrados e não filtrados obtidas no lagar foram recolhidas logo no final da campanha 2017/2018, diretamente dos depósitos de armazenamento para frascos de vidro escuro de 250ml devidamente identificados e fechados com tampas de rosca, como mostram as Figura 10 e Figura 11.



Figura 10 Recipiente utilizado para armazenamento das amostras



Figura 11 Tampas de rosca que celaram o recipiente

O filtro utilizado pela empresa é de terras de filtração. As terras utilizadas na filtração foram *Celite Hyflo SC* e *Alfatex 151*, apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 Identificação das Terras de Filtração Utilizadas

Terras (marca comercial)	Dados
<i>Alfatex 151</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Pré-camada para filtração de azeite -Composição: Adjuvante sílica – Celulose -Modo de emprego: Dispersar o produto diretamente no dispensador do filtro para formar a pré-camada -Doses: de 500 a 1000g/m² -Lote: 302A16F
<i>Celite Hyflo SC</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Terras diatomáceas de filtração de azeite -Lote: 4AP16339

Antes de fechar definitivamente as amostras, e antes de as colocar nos diferentes locais de conservação, no próprio dia da recolha das mesmas, fez-se análises iniciais aos parâmetros selecionados. As análises foram realizadas pelo método NIR através do equipamento da marca *Bruker*® (Figura 12) na ACOS-Associação de Agricultores do Sul localizada em Beja e também por métodos de bancada no laboratório de enologia e azeite da Escola Superior Agrária de Beja.

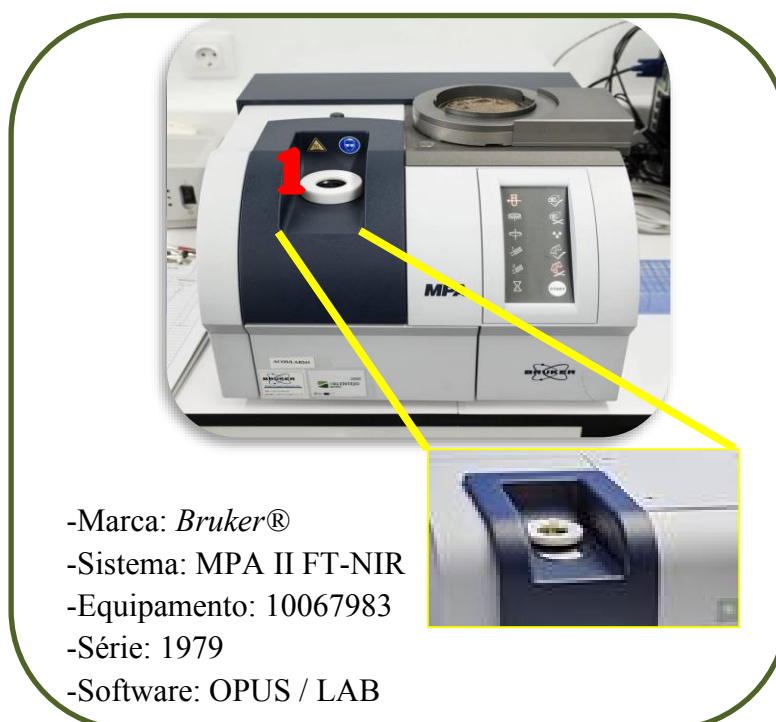


Figura 12 Equipamento Bruker

Este equipamento de espectroscopia possui vários compartimentos para amostras líquidas e sólidas, tendo sido utilizado o compartimento identificado a vermelho pelo número 1.

O compartimento 1 possui um sistema de aquecimento da amostra e capacidade de fundo automatizada, permitindo a fácil medição de líquidos (neste caso as amostra de AVE) em tubos descartáveis. O OPUS é o software utilizado. É muito abrangente em diversas funções de processamento e avaliação de dados e pode ser completamente configurado para atender às necessidades pretendidas.

As leituras que o equipamento mediu nas amostras foram as seguintes:

- Acidez %
- Peróxidos meq.O₂/Kg
- K270
- Ácido Oleico %
- Ácido Linoleico %
- Ácido Linolénico %
- Ácido Palmítico %

As análises de bancada efetuadas no Laboratório de Enologia e Azeite da Escola Superior Agrária do IPBeja foram as seguintes:

POLIFENÓIS TOTAIS

Os polifenóis são considerados os principais compostos com atividade anti-oxidante presentes no azeite, dada a sua capacidade de doar um átomo de hidrogénio ao radical lipídico formado durante a fase de propagação da oxidação dos lípidos, contribuindo, assim, para a estabilidade do AVE.

- O método utilizado foi o procedimento interno baseado na leitura espectrofotométrica, pelo espectrofotómetro *Shimadzu* UV-160A, da absorvância a 725nm, após reação com solução de Folin-Ciocalteu.
- O material utilizado foram células de quartzo, ampolas de decantação de 100mL, balões volumétricos de 25mL e 50mL, provetas de 25mL, copos de 50 ou 100mL, pipetas de 2, 5 e 10mL, pipetas diferenciais de 5mL, propipetas de 2 e 10 mL, balança analítica (*Mettler Toledo* AB204-S)
- Os reagentes foram Folin-Ciocalteu, mistura de metanol/água (6/4), n-hexano 99%, solução Na₂CO₃ a 20% e água destilada (obtida no equipamento *Interlab* Edi5).
- O Procedimento foi o seguinte:

I-Preparação da Solução Referência – Para um balão de 25mL pipetou-se 14mL de água destilada, 2,5mL de mistura metanol/água (6/4) e 1,25mL do reagente Folin-Ciocalteu. Agitou-se e reservou-se na ausência de luz durante 3 minutos. Ao fim deste tempo, adicionou-se 4mL de Na_2CO_3 a 20% e completou-se o volume do balão com água destilada.

II-Preparação da Amostra

II.a – Pesou-se rigorosamente (3 casas decimais), cerca de 10g de AVE para um copo e dissolveu-se em 25mL de n-hexano. Transferiu-se seguidamente para a ampola de 100mL. Fez-se 3 extrações de 10mL cada com a mistura metanol-água, agitando durante 30seg. após cada adição. Após a separação das fases, recolheu-se os extractos para um balão volumétrico de 50mL (Figura 13). Completou-se o volume do balão com água destilada. Obteve-se, assim, o extracto fenólico.

II.b – Para um balão de 25mL, mediu-se 14mL de água destilada, 5mL de extracto fenólico (com pipeta diferencial) e 1,25mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Agitou-se energicamente e guardou-se na ausência de luz durante 3min. Após este tempo, juntou-se 4mL da solução de Na_2CO_3 a 20%, completou-se o volume do balão com água destilada e colocou-se ao abrigo da luz durante 1 hora.

Ao fim deste tempo, fez-se a leitura no espectrofotómetro (*Shimadzu*, UV-160A), a 725nm, usando uma célula de quartzo. Na célula de referência, usou-se a solução de referência preparada.



Figura 13 Análise de polifenóis totais a aguardar a separação das fases e o balão de 50 ml para recolha da mesma

- Os resultados do teor de polifenóis totais, expressos em ácido cafeico são expressos pela seguinte fórmula:

$$\frac{(8,54 \cdot \text{leitura}) - 0,25 \cdot 250}{\text{peso da amostra}} = \text{mg/kg de azeite}$$

PIGMENTOS CLOROFILINOS E CAROTENÓIDES

A cultivar e o grau de maturação das azeitonas influenciam a qualidade do AVE. A maturação é acompanhada por alterações profundas dos frutos: cor, qualidade organolética e nutricional, teores em gordura, humidade e composição química em ácidos gordos e constituintes menores. A cor e as características cromáticas do AVE constituem parâmetros sensoriais importantes. As tonalidades esverdeadas estão associadas a maiores teores em clorofilas e as tonalidades alaranjadas aos carotenóides. Clorofilas e carotenóides tendem a decrescer progressivamente ao longo da maturação dando lugar às antocianinas.

Para a determinação do teor de pigmentos clorofilinos e carotenoides utilizou-se o método adaptado de Minguez-Mosquera.

- O equipamento e material utilizado foi o espectrofotómetro (*Shimadzu*, UV-160A), pipeta de 10mL, copo, balão de 25mL, células de quartzo, ciclo-hexano, balança analítica (*Mettler Toledo* AB204-S)
- O procedimento foi o seguinte: Pesou-se 7,5g de AVE para um copo e passou-se este para um balão de 25mL, arrastando a amostra com ciclo-hexano. Completou-se o volume do balão com ciclo-hexano. Agitou-se e leu-se em células de quartzo os valores das absorvâncias a 670nm para a clorofila e a 470nm para os carotenóides.

Os resultados dos pigmentos são expressos da seguinte forma:

Pigmentos clorofilinos (mg/Kg) = $(A_{670} \cdot 10^6) / (613 \cdot 100 \cdot d)$

Pigmentos carotenóides (mg/Kg) = $(A_{470} \cdot 10^6) / (2000 \cdot 100 \cdot d)$

A=valor das absorvâncias a 670 e 470nm

d=espessura da célula de quartzo (1cm)

3.4. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

Para o processamento de dados foi utilizada a aplicação de cálculo Microsoft Excel 365. Todos os tratamentos e gráficos foram elaborados pelo software *IBM SPSS Statistics 25*. Os valores médios foram obtidos a partir de três replicações ($n=3$) em cada amostra. Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos para cada um dos parâmetros foi usada a estatística descritiva, através da determinação da média, desvio e erro padrão, bem como intervalo confiança da média a 95% ($p < 0,05$), por amostra. E para monitorizar a evolução dos parâmetros do azeite ao longo do tempo nos diversos locais de conservação, foram efetuadas análises de variância a dois fatores (teste de Tukey para comparação de médias).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na apresentação dos resultados optou-se por referir os resultados por parâmetros analisados, discutindo por local de armazenamento a evolução ao longo do tempo das diversas amostras. Sendo o principal objetivo do ensaio comparar amostras filtradas e não filtradas, optou-se por construir, para cada determinação, tabelas resumo onde se apresentam os valores médios das 3 datas de análise para cada temperatura de armazenamento e as respectivas diferenças estatísticas. Construíram-se também tabelas (média e desvio padrão) com todas as amostras analisadas para melhor se visualizar a sua evolução ao longo do tempo.

4.1. RESULTADOS POR PARÂMETROS

4.1.1. ACIDEZ

A Figura 14 mostra que, numa visão global, ao longo do tempo, nas diversas amostras e respectivos locais de armazenamento, a percentagem de acidez tende a aumentar gradualmente. Mesmo com um aumento gradual, todas as amostras, mantiveram-se na categoria de virgem extra, ou seja, com uma percentagem de acidez $< 0,8\%$, seja nas condições de câmara, de estufa ou de armazém de depósitos. Verifica-se que as amostras não filtradas apresentam uma acidez superior às filtradas e que o aumento da acidez com o tempo foi tanto mais acentuado quanto mais elevada era a temperatura a que estavam sujeitos.

Especificamente entre a mesma amostra, filtrada e não filtrada, as armazenadas em câmara aumentaram apenas ligeiramente ao longo do tempo, notando-se que as não filtradas têm uma evolução de acidez ligeiramente superior às filtradas, mas que, estatisticamente, não tem significado (Tabela 10); as amostras armazenadas em armazém de depósitos apresentam um aumento ligeiro ao longo do tempo, continuando a notar-se que as não filtradas têm uma evolução de acidez ligeiramente superior às filtradas, e aqui, estatisticamente, com significância (Tabela 10), excepto na amostra EA4; e por fim, as amostras armazenadas em estufa aumentaram significativamente o valor da acidez ao longo do tempo, também notando-se que as não filtradas têm uma evolução de acidez ligeiramente superior às filtradas, estatisticamente com significância (Tabela 10), excepto na amostra EA4. Os valores de acidez são mais elevados nas amostras não filtrados porque, segundo Fortini *et al*, 2015 as lipases atuam na interface entre a água e o azeite, onde a parte hidrofóbica da enzima liga-se às moléculas dos triglicéridos, enquanto o sítio

ativo alinha-se com o substrato e rompe as ligações de éster do triglicérido, pelo que o aumento dos ácidos gordos livres deve-se provavelmente ao teor de água existente no azeite não filtrado, o que permite que as enzimas lipase hidrolisem os triglicerídeos durante o período de armazenamento. Esses resultados estão de acordo com o trabalho de Fregapane *et al*, 2006 onde relatam que a filtração reduziu a taxa de hidrólise da matriz triacilglicerol.

É importante enunciar que após 8 meses de conservação, o local de armazenamento que mais influenciou o parâmetro acidez foi a estufa, com a temperatura mais elevada; e o que menos afetou foi a câmara, com temperatura mais baixa.

Tabela 10 Percentagem de acidez das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	0.11 ± 0.01^a	0.12 ± 0.01^{ab}
D C	0.11 ± 0.01^a	0.13 ± 0.01^{bc}
E C	0.16 ± 0.04^f	0.18 ± 0.05^g
C EA3	0.16 ± 0.01^{ef}	0.19 ± 0.01^h
D EA3	0.17 ± 0.02^{fg}	0.21 ± 0.02^{ij}
E EA3	0.21 ± 0.06^j	0.25 ± 0.06^k
C EA4	0.14 ± 0.00^{cd}	0.15 ± 0.01^{de}
D EA4	0.15 ± 0.01^{def}	0.16 ± 0.02^{ef}
E EA4	0.20 ± 0.05^{hi}	0.21 ± 0.06^{ij}

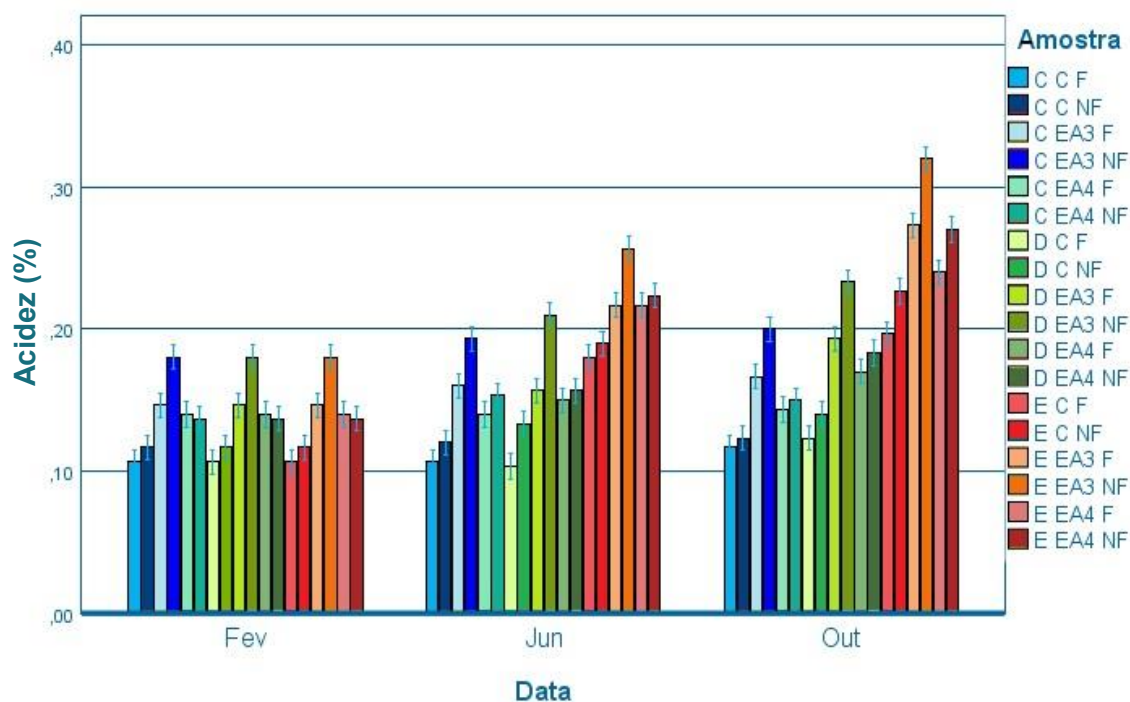


Figura 14 Evolução da percentagem de acidez nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

4.1.2. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Se o IP indica o estado de oxidação do azeite através da medida dos produtos primários da oxidação que não deve exceder, segundo a legislação, os 20 meq O₂/Kg de azeite para a categoria virgem extra, então pode-se afirmar, através da Figura 15, que as amostras ao longo do tempo nos diversos locais de conservação mantiveram-se muito abaixo do valor máximo legislado. Observa-se também que, ao longo do tempo, houve um aumento do índice de peróxidos, tendo os valores mais elevados sido registados em Outubro nas amostras que permaneceram em armazém. No final do ensaio o valor mais baixo tanto nas filtradas como não filtradas foi o da amostra D C e o mais elevado tanto nas filtradas como não filtradas foi o da amostra D EA4.

Especificamente para a mesma amostra, filtrada e não filtrada, as armazenadas em câmara aumentaram ao longo do tempo, notando-se que as não filtradas apresentam um índice de peróxidos inferior às filtradas, com significância estatística (Tabela 11); as amostras armazenadas em armazém de depósitos apresentam um aumento ao longo do tempo, continuando a notar-se que as não filtradas têm um índice de peróxidos inferior às filtradas, estatisticamente, com significância (Tabela 11); por fim, as amostras armazenadas em estufa aumentaram ao longo do tempo, também notando-se que as não

filtradas têm uma diminuição do índice de peróxidos relativamente às filtradas, estatisticamente com significância (Tabela 11).

Estes valores são apoiados pela literatura e segundo Fortini *et al.* (2015), o valor mais elevado do índice de peróxidos nas amostras filtradas em relação às não filtradas pode ser devido à exposição ao oxigénio durante a filtração. Além disso, os azeites filtrados podem ser mais sensíveis à ação pró-oxidante da luz.

Tabela 11 Índice de Peróxidos (meq O₂/Kg) das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	5.96 ± 0.40 ^d	5.11 ± 0.92 ^b
D C	5.75 ± 0.26 ^c	4.32 ± 0.40 ^a
E C	6.34 ± 0.82 ^e	4.53 ± 0.61 ^a
C EA3	7.35 ± 0.06 ^{ij}	6.35 ± 0.39 ^e
D EA3	7.91 ± 0.53 ^k	6.95 ± 0.95 ^g
E EA3	8.53 ± 1.10 ^m	6.59 ± 0.66 ^f
C EA4	7.11 ± 0.38 ^{gh}	6.72 ± 0.36 ^f
D EA4	8.57 ± 1.63 ^m	8.32 ± 1.75 ^l
E EA4	7.55 ± 0.67 ^j	7.19 ± 0.78 ^{hi}

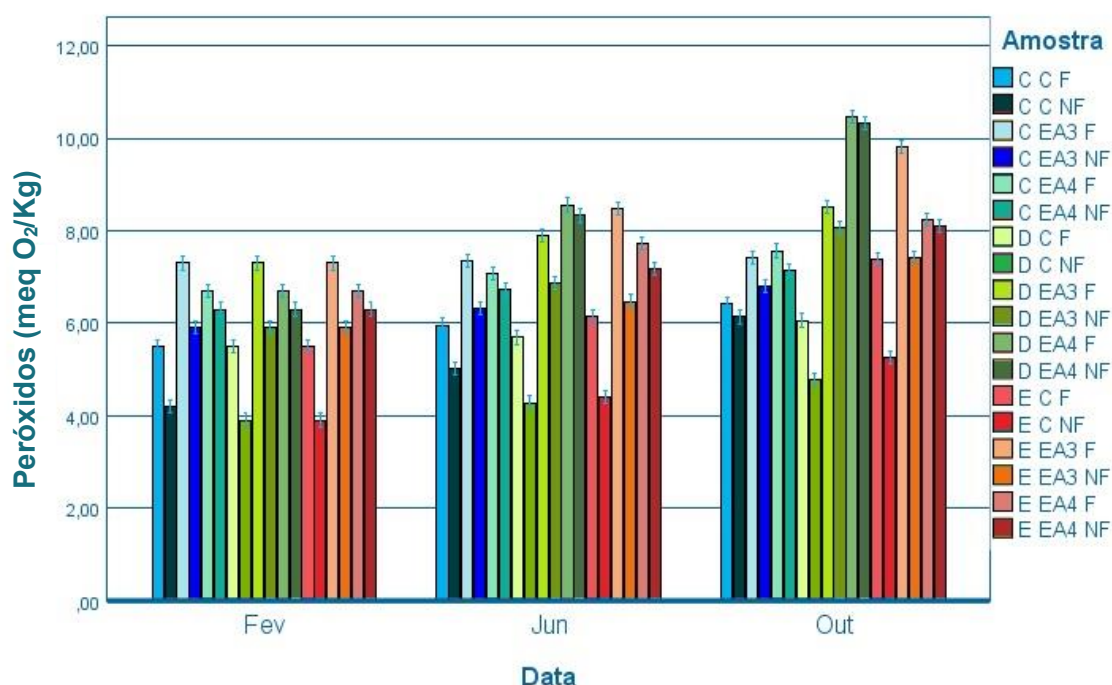


Figura 15 Evolução dos peróxidos das amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

4.1.3. ÍNDICE ESPETROFOTOMÉTRICO K270

Este parâmetro pode ser correlacionado com os resultados obtidos na determinação do índice de peróxidos na medida em que, em ambos os ensaios, avaliam os processos oxidativos que podem ocorrer no azeite durante o seu armazenamento. O k270 mede os compostos secundários da oxidação, formados a partir da destruição dos peróxidos.

Como se pode verificar na Figura 16, os valores obtidos para o índice K270 para as diversas amostras, , são inferiores ao valor máximo permitido pela legislação para AVE ($\leq 0,22$). No geral houve um aumento ao longo dos 8 meses de armazenamento sendo o aumento mais acentuado para as amostras filtradas, o que está de acordo com a maior exposição ao oxigénio destes azeites

Especificamente para a mesma amostra, filtrada e não filtrada, as armazenadas em câmara aumentaram ao longo do tempo, notando-se que as não filtradas têm um valor inferior do índice espectral K270 relativamente às filtradas, mas que, estatisticamente, não tem significância (Tabela 12), excepto na amostra EA4 que já apresenta diferenças estatisticamente significativas; as amostras armazenadas em armazém de depósitos apresentam um aumento ao longo do tempo, continuando a notar-se que as não filtradas têm um valor inferior relativamente às filtradas, estatisticamente, com significância (Tabela 12); por fim, as amostras armazenadas em estufa aumentaram ao longo do tempo, também notando-se que as não filtradas apresentam um teor inferior de compostos secundários de oxidação relativamente às filtradas, estatisticamente com significância (Tabela 12)

Tabela 12 Valores de K270 das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	0.08 ± 0.02^a	0.08 ± 0.01^{abc}
D C	0.09 ± 0.02^{de}	0.08 ± 0.01^a
E C	0.10 ± 0.03^{efg}	0.09 ± 0.02^{de}
C EA3	0.10 ± 0.02^{ef}	0.09 ± 0.03^{cde}
D EA3	0.11 ± 0.02^{fgh}	0.08 ± 0.02^a
E EA3	0.11 ± 0.03^h	0.09 ± 0.03^{bcde}
C EA4	0.11 ± 0.01^{fgh}	0.08 ± 0.03^{ab}
D EA4	0.11 ± 0.01^{gh}	0.09 ± 0.03^{abcd}
E EA4	0.12 ± 0.02^i	0.10 ± 0.04^{efg}

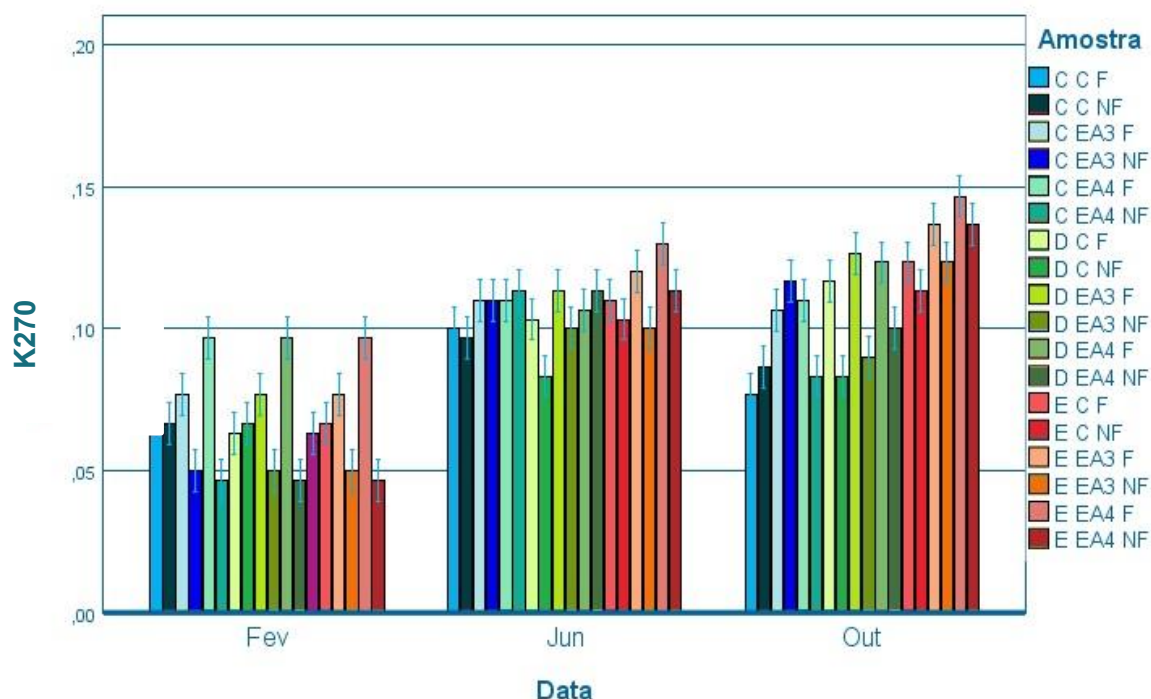


Figura 16 Evolução do índice espectralométrico K270 nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

4.1.4. ÁCIDOS GORDOS

Frisando primeiramente o ácido gordo de maior teor no azeite, o ácido oleico, podemos afirmar que os valores são elevados (entre 72 e 77 %), o que é favorável, pois quanto maior a percentagem de ácido oleico (limite mínimo é 55% e máximo é 83%) no azeite, em relação aos teores de ácido linoleico e linolénico (mais insaturados) menos suscetível é à oxidação. A amostra C apresenta o teor mais elevado, na ordem dos 77 %, enquanto as amostras EA3 e EA4 se situam nos 72%. Observando a Tabela 13 observa-se que os valores mantêm-se praticamente constantes, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre filtrados e não filtrados, excepto na amostra D C e E EA4, onde verificamos diferenças significativas entre amostras filtradas e não filtradas, tendo a amostra D C NF menos % de ácido oleico do que o D C F e a amostra E EA4 NF tem maior % de ácido oleico que a E EA4 F. Também não se verificaram diferenças significativas ao longo do tempo do ensaio.

O ácido linoleico, o mais propício à reação de oxidação, segundo os resultados obtidos (Tabela 13), mantém-se dentro dos limites legais, entre 3,5 e 21%., apresentando a amostra C um conteúdo muito baixo, de cerca de 4,7% enquanto as amostras EA3 e EA4 se aproximam dos 8%. Especificamente entre a mesma amostra, filtrada e não filtrada, as

armazenadas em câmara mantiveram-se constantes ao longo do tempo, não se verificando estatisticamente diferenças significativas entre filtradas e não filtradas (Tabela 13); as amostras armazenadas em armazém de depósitos apresentam-se constantes ao longo do tempo, não se verificando diferenças estatisticamente significativas na filtração em D C, mas em EA 3 e EA4 já se verificam algumas diferenças significativas, apresentando a amostra EA3 NF maior % de ácido linoleico em relação a EA3 F e na amostra EA4 F verifica-se maior % de ácido linoleico em relação a EA4 NF (Tabela 13), o que mostra que a filtração não terá influencia neste parâmetro; por fim, as amostras armazenadas em estufa também se mantiveram constantes ao longo do tempo, notando-se que, no geral, não existem diferenças significativas em relação à filtração, excepto na amostra EA3, em que a EA3 NF apresenta maior % de ácido linoleico do que a EA3 F.

Em relação ao ácido linolénico, os valores obtidos respeitam os limites legais (inferior a 1.0%), mantendo-se constantes ao longo do tempo. Não existem diferenças, estatisticamente significativas, entre as amostras (Tabela 13).

Por fim, em relação ao ácido palmítico, os valores obtidos mantêm-se constantes ao longo do tempo e dentro dos limites legais (7.5-20%). Entre as amostras podemos verificar que não existem diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 13 Valores (%) dos ácidos gordos oleico, linoleico, linolénico e palmítico das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Oleico		Linoleico		Linolénico		Palmítico	
	Filtrado	Não Filtrado	Filtrado	Não Filtrado	Filtrado	Não Filtrado	Filtrado	Não Filtrado
C C	77.28 ± 0.70 ^g	77.35 ± 0.83 ^g	4.70 ± 0.12 ^a	4.70 ± 0.15 ^a	0.61 ± 0.04 ^a	0.59 ± 0.04 ^a	11.17 ± 0.20 ^a	11.46 ± 0.32 ^a
D C	75.79 ± 1.96 ^f	77.35 ± 0.82 ^g	4.67 ± 0.15 ^a	4.69 ± 0.16 ^a	0.62 ± 0.06 ^a	0.60 ± 0.05 ^a	11.43 ± 0.58 ^a	11.51 ± 0.29 ^a
E C	77.21 ± 0.65 ^g	77.22 ± 0.69 ^g	4.66 ± 0.15 ^a	4.72 ± 0.12 ^a	0.60 ± 0.04 ^a	0.60 ± 0.04 ^a	11.34 ± 0.21 ^a	11.58 ± 0.22 ^a
C EA3	72.31 ± 0.40 ^{abc}	72.55 ± 0.92 ^{cde}	7.83 ± 0.16 ^{bc}	7.75 ± 0.38 ^b	0.66 ± 0.05 ^a	0.66 ± 0.05 ^a	12.48 ± 0.73 ^{bc}	12.40 ± 0.53 ^b
D EA3	72.19 ± 0.34 ^{ab}	72.04 ± 0.55 ^a	7.88 ± 0.11 ^{cd}	8.04 ± 0.17 ^{ef}	0.66 ± 0.05 ^a	0.68 ± 0.05 ^a	12.62 ± 0.53 ^{bcd}	13.04 ± 0.22 ^{de}
E EA3	72.30 ± 0.44 ^{abc}	72.04 ± 0.54 ^a	7.97 ± 0.06 ^{de}	8.11 ± 0.11 ^f	1.44 ± 2.35 ^a	0.67 ± 0.05 ^a	13.01 ± 0.43 ^{de}	13.14 ± 0.26 ^e
C EA4	72.48 ± 0.82 ^{bcd}	72.21 ± 0.23 ^{ab}	7.88 ± 0.32 ^{cd}	7.91 ± 0.09 ^{cd}	0.67 ± 0.05 ^a	0.66 ± 0.05 ^a	12.79 ± 0.18 ^{bcde}	12.71 ± 0.13 ^{bcde}
D EA4	72.46 ± 0.83 ^{bcd}	72.73 ± 0.59 ^{de}	7.89 ± 0.31 ^{cd}	7.74 ± 0.15 ^b	0.67 ± 0.05 ^a	0.67 ± 0.05 ^a	12.83 ± 0.19 ^{cde}	12.84 ± 0.14 ^{cde}
E EA4	72.41 ± 0.85 ^{bc}	72.82 ± 0.70 ^e	7.83 ± 0.32 ^{bc}	7.74 ± 0.15 ^b	0.65 ± 0.05 ^a	0.66 ± 0.05 ^a	12.83 ± 0.15 ^{cde}	12.80 ± 0.14 ^{bcde}

4.1.5. POLIFENÓIS

Em termos globais, e observando a Figura 17, podemos verificar que, ao longo do tempo, o teor de polifenóis totais mantém-se constante até Junho, mas seguidamente ocorre um aumento, verificado na análise de Outubro. Especificamente para a mesma amostra, filtrada e não filtrada, ocorreram diferenças estatisticamente significativas nas amostras E C, C EA3 e D EA3, onde as não filtradas (E C NF, C EA3 NF e D EA3 NF) apresentam maior quantidade de polifenóis do que as filtradas (E C F, C EA3 F e D EA3 F); nas restantes amostras não ocorreram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 14).

No geral verifica-se que as amostras não filtradas tendem a apresentar um teor ligeiramente mais elevado de polifenóis totais que vai de encontro à literatura, mencionado por Directo del Olivar (2018), que refere que em AVE não filtrado os teores de polifenóis são mais elevados, mesmo que nem sempre a diferença seja estatisticamente significativa. Esta diferença tende a acentuar-se em Outubro, no final dos 8 meses de ensaio. Com o tempo verificou-se uma ligeira descida do conteúdo de Fevereiro para Junho mas, de Junho para Outubro, e ao contrário do que seria de esperar, verificou-se um aumento do teor, mais acentuado nas amostras não filtradas em relação às filtradas, especialmente para a temperatura mais elevada. Vincenzo *et al* (2010) verificou, num ensaio realizado, que no final de um período de armazenamento de 12 meses à temperatura ambiente, certos compostos fenólicos como o tirosol e o hidroxitirosol aumentavam, o que se poderia justificar pela atividade enzimática, hidrolítica, de fenóis complexos.

Tabela 14 Valores dos polifenóis em mg/kg de azeite das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	207.32 ± 29.98 ^b	206.94 ± 24.46 ^b
D C	232.46 ± 20.91 ^{fg}	238.11 ± 30.12 ^g
E C	217.38 ± 15.20 ^{bcde}	231.06 ± 26.25 ^{fg}
C EA3	191.07 ± 23.00 ^a	205.17 ± 26.85 ^b
D EA3	214.30 ± 23.56 ^{bcd}	227.21 ± 32.08 ^{efg}
E EA3	213.72 ± 22.27 ^{bcd}	226.04 ± 33.97 ^{defg}
C EA4	206.45 ± 30.35 ^b	211.48 ± 29.90 ^{bc}
D EA4	223.96 ± 21.09 ^{cdef}	230.44 ± 22.95 ^{fg}
E EA4	221.62 ± 16.16 ^{cdef}	232.63 ± 22.10 ^{fg}

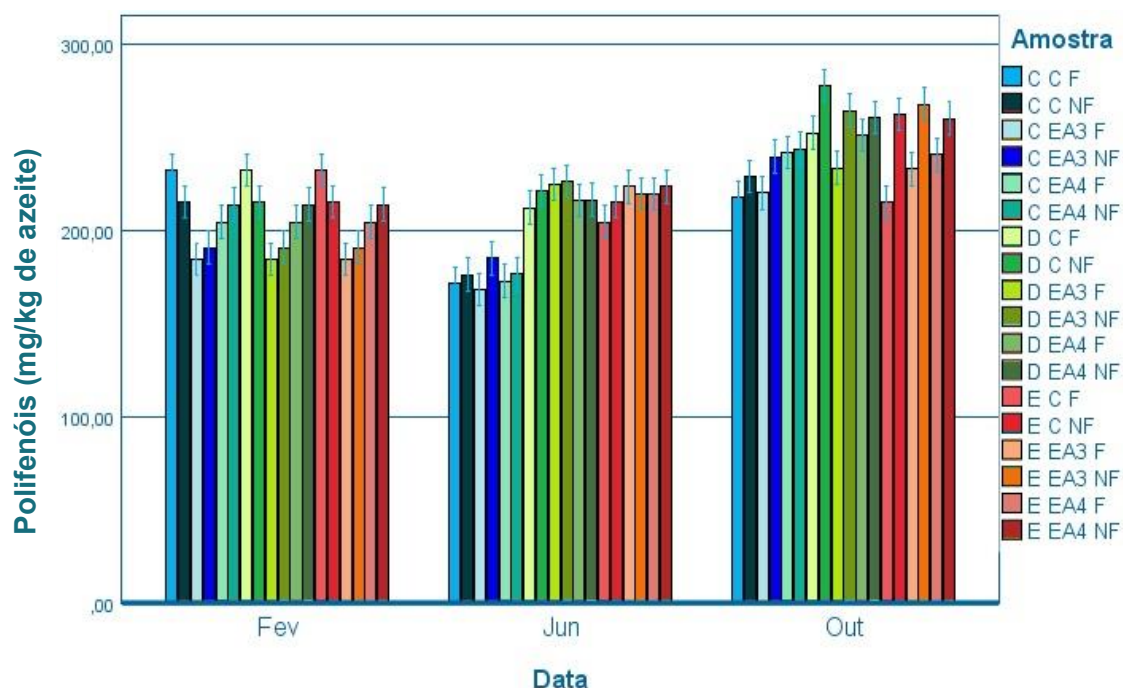


Figura 17 Evolução dos polifenóis (mg/kg de azeite) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

4.1.6. PIGMENTOS CLOROFILINOS E CAROTENÓIDES

Em média (Tabela 15), os valores do pigmento clorofila nas amostras não filtradas, são mais elevados do que nas filtradas, o que está de acordo com Fortini *et al.* (2015). Em termos globais, podemos observar a partir da Figura 18, um ligeiro decréscimo deste pigmento com o tempo, embora haja algumas amostras em que esta descida não se verifica, não estando, por isso, em concordância com a maior parte da literatura. Para as amostras C C F, C EA3 F, C EA3 NF, C EA4 F, C EA4 NF, D C F e E C F, o teor de clorofila diminui ligeiramente de Fevereiro a Junho mas volta a subir em Outubro. Esta discordância do aumento da clorofila no final do ensaio é reprovada pelo descrito em Sánchez *et al.* (2012), que refere que o conteúdo em clorofilas diminui com o tempo de armazenamento, no entanto, em simultâneo, pode ser apoiada com os resultados obtidos por Serrano (2014), em que os mesmos (aumento com o tempo) são justificados pelos autores Gutiérrez & Fernández (2002) e Giuliani, *et al.* (2011) através da cinética do azeite afirmando que a taxa de degradação das clorofilas depende de vários fatores, incluindo o tipo e o nível de atividade das enzimas envolvidas no catabolismo de cada variedade.

Verifica-se que (Tabela 15) para a mesma amostra, filtrada e não filtrada, as armazenadas em câmara apresentam diferenças estatisticamente significativas (excepto na amostra C

EA4), em que as não filtradas apresentam maior quantidade do pigmento clorofila; as amostras armazenadas em armazém de depósitos também apresentam diferenças estatisticamente significativas (excepto na amostra D EA4), em que as não filtradas apresentam maior quantidade do pigmento clorofila; por fim, as amostras armazenadas em estufa continuam com diferenças estatisticamente significativas (excepto na amostra C EA4), e em que as não filtradas apresentam maior quantidade do pigmento clorofila.

Tabela 15 Clorofila em mg/kg das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	9.41 ± 1.09 ^h	10.14 ± 0.52 ⁱ
D C	9.41 ± 1.01 ^h	10.20 ± 0.46 ⁱ
E C	8.90 ± 1.34 ^{fg}	10.00 ± 0.65 ⁱ
C EA3	7.61 ± 0.28 ^{bc}	8.83 ± 0.26 ^{fg}
D EA3	7.41 ± 0.37 ^b	7.94 ± 0.56 ^{cd}
E EA3	6.97 ± 0.82 ^a	8.00 ± 0.54 ^{cd}
C EA4	8.57 ± 0.78 ^{ef}	8.33 ± 1.09 ^{de}
D EA4	8.93 ± 0.47 ^{fg}	9.20 ± 0.41 ^{gh}
E EA4	8.64 ± 0.64 ^{ef}	8.87 ± 0.55 ^{fg}

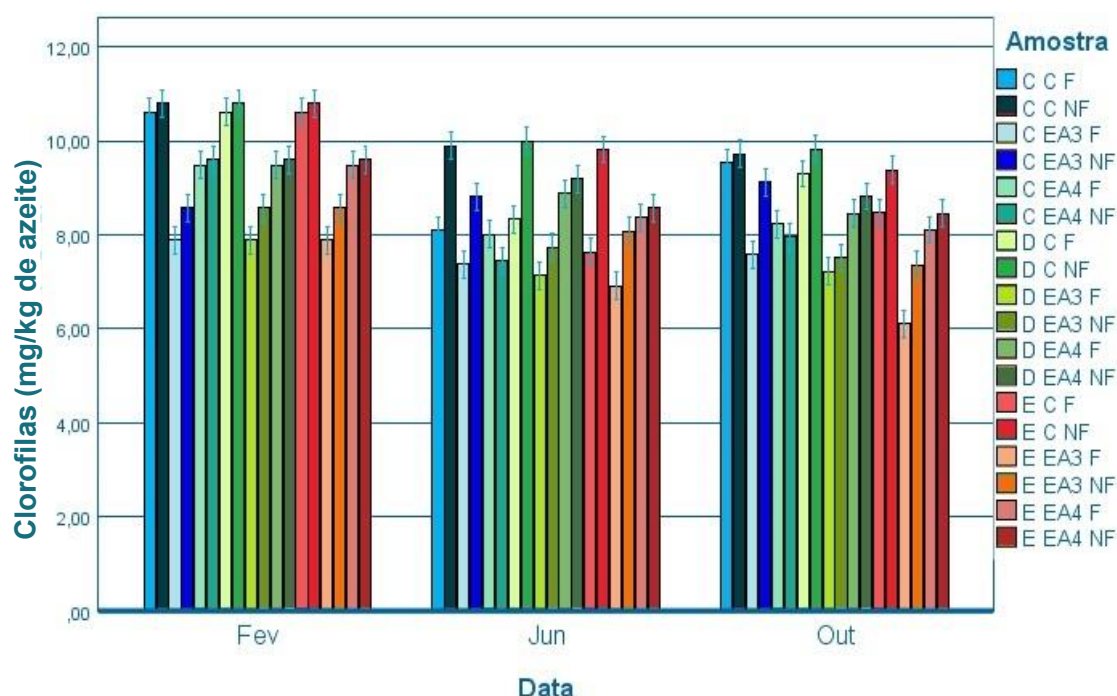


Figura 18 Evolução da clorofila (mg/kg) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

Em relação aos carotenos, é globalmente visível o ligeiro decréscimo do pigmento ao longo do tempo (Figura 19). Em média, pela Tabela 16, verificamos que a maior quantidade dos carotenóides se encontram nas amostras não filtradas, o que vai ao encontro do estudo de Sánchez *et al.* (2012), que refere o decréscimo dos carotenos em azeites filtrados, apresentado os azeites não filtrados maior quantidade destes pigmentos.

Para a mesma amostra, filtrada e não filtrada, pela Tabela 16, observa-se que as armazenadas em câmara não apresentam diferenças estatisticamente significativas (excepto na amostra C EA3); as amostras armazenadas em armazém de depósitos não apresentam diferenças estatisticamente significativas; por fim, as amostras armazenadas em estufa apresentam diferenças estatisticamente significativas (excepto na amostra E EA4).

Tabela 16 Carotenos em mg/kg das amostras filtradas e não filtradas (média dos resultados obtidos nas três datas de análise)

Amostra	Filtrado	Não Filtrado
C C	4.14 ± 0.61 ^{fg}	4.34 ± 0.30 ^{gh}
D C	4.39 ± 0.42 ^{gh}	4.48 ± 0.21 ^h
E C	3.95 ± 0.76 ^{ef}	4.33 ± 0.63 ^{gh}
C EA3	3.30 ± 0.25 ^{ab}	3.61 ± 0.17 ^{cd}
D EA3	3.34 ± 0.23 ^{abc}	3.50 ± 0.27 ^{bcd}
E EA3	3.15 ± 0.48 ^a	3.52 ± 0.22 ^{bcd}
C EA4	3.56 ± 0.37 ^{bcd}	3.56 ± 0.47 ^{bcd}
D EA4	3.70 ± 0.31 ^{de}	3.80 ± 0.21 ^{de}
E EA4	3.59 ± 0.35 ^{bcd}	3.72 ± 0.27 ^{de}

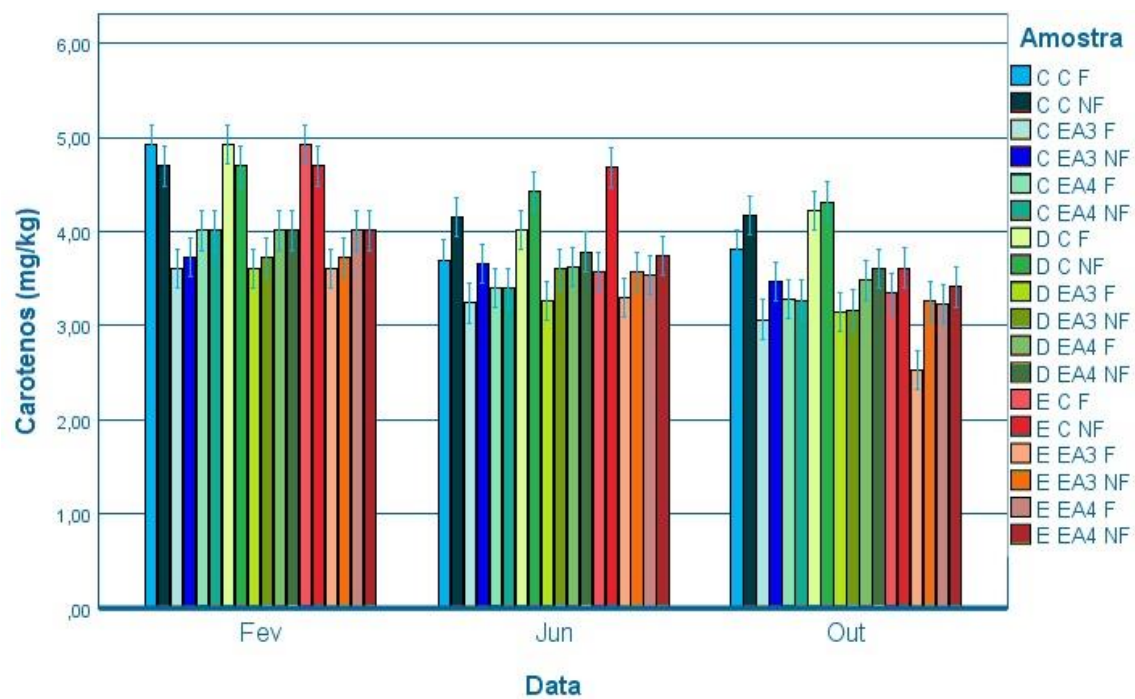


Figura 19 Evolução dos carotenos (mg/kg) nas amostras ao longo dos 8 meses de armazenamento, nas diversas condições de temperatura

5. CONCLUSÃO

Azeite virgem extra filtrado ou não filtrado? Atualmente questiona-se qual será melhor comprar e, para esta questão, não há resposta definitiva pois a filtração pode alterar positivamente ou negativamente as suas características, de acordo com vários fatores como a composição inicial do azeite, o tempo que decorre até ao consumo, as condições ambientais a que está sujeito, principalmente de luz e temperatura e até mesmo do filtro utilizado no lagar.

No desejo de inovar e exportar azeite virgem extra não filtrado, especialmente para o Brasil, realizou-se o ensaio que avaliou o efeito do tempo de armazenamento, em diversas condições de temperatura, em diferentes lotes de azeite virgem extra filtrado e não filtrado.

Nas condições do ensaio de armazenamento de 8 meses pode-se concluir que, no geral, não existem alterações substanciais, entre azeites filtrados e não filtrados, pois em todas as amostras, os valores finais do mostraram que se mantêm na categoria de virgem extra. Verificou-se que a temperatura de armazenamento que mais afeta os parâmetros analisados é a mais elevada (30°C), mas que, estatisticamente não são valores significativos, mantendo as amostras os limites legais da categoria virgem extra; a temperatura de armazenamento que mantém os parâmetros analisados em níveis constantes ao longo do tempo é a temperatura de congelação (-20°C), podendo também verificar-se esta constância no armazém de depósitos (17°C), embora já apresente uma diferença estatisticamente significativa em relação à câmara frigorífica, para níveis superiores de alteração.

Relativamente à filtração, o facto de as amostras serem filtradas ou não filtradas, só interfere significativamente na percentagem de acidez, em que as não filtradas apresentam maior acidez, mas mesmo assim essa significância em nada altera porque mantêm-se em categoria de virgem extra. A não filtração comprova-nos uma melhor qualidade ao longo dos 8 meses de ensaio, mas como o tempo de ensaio deveria ser de 12 meses ou até mesmo de 18 meses (tempo em que um azeite pode estar em prateleira até produção de novo azeite/nova campanha) os resultados podem não ser definitivos, podendo ser mais tarde estudada a condição de maior tempo de armazenamento. Também o facto de existirem diversos tipos de filtros no mercado, pode, de uma forma ou outra, influenciar os

parâmetros estudados, em que alguns podem reter maiores ou menores quantidades dos compostos, sendo um possível tema para futuros ensaios.

Conclui-se que é possível exportar azeite não filtrado para países de temperaturas mais elevadas (p.e. para o Brasil), pois a influência da temperatura, para o tempo de ensaio, não levou à perda da classificação de virgem extra. Sendo a não filtração um tema ainda pouco divulgado, penso que seria uma estratégia excelente de aconselhamento à empresa Fundação Eugénio de Almeida, alargando e enriquecendo o mercado exportador. O lote de azeite considerado para exportar é o EA4, que tem uma composição em variedades de azeitona muito semelhante ao lote EA3 e, por isso, os resultados obtidos para as duas amostras foram muito semelhantes. O lote de azeite C tem uma composição em variedades de azeitona diferente, resultando num azeite com características diferentes das outras duas, principalmente na composição em ácidos gordos, com um teor mais elevado em ácido oleico e menor nos ácidos linoleico e linolénico, o que o torna mais estável, principalmente em relação à degradação oxidativa, como se pode observar nos resultados obtidos neste ensaio. Sugere-se, assim, considerar para exportação o lote de azeite C em vez do EA4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agbiolab, I. (2011). *Olive Oil Filtration*.
- Alba, J., Izquierdo, J., Gutiérrez, F., & Vossen, P. (2008). *Aceite de oliva virgen. Análise sensorial*. Madrid: 2ªEdición. Editorial Agrícola Española, S.A.
- Alter, M., & Gutfinger, T. (1982). Phospholipids in Several Vegetable Oils. *Revista Italiana delle Sostanze Grasse* 59, 14-18.
- Angerosa, F., Campestre, C., & Giansante, L. (2006). Analysis and Authentication. *Olive Oil Chemistry and Technology*. Second Edi. AOCS Publishing.
- Ayton, J., Haigh, T., Tronson, D., & Mailor, R. (1995). *The effect of harvest timing on olive oil quality*. Hawkesbury Campus, Sydney, NSW: Centre for Horticulture and plant Science (CHAPS).
- Baer, I. (2006). *Contribuição para o estudo da degradação oxidativa de azeites virgens*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa: Dissertação de Mestrado para obtenção do Grau de Mestre. .
- Baer, I. M. (2015). *Rastreabilidade de Azeites Virgens Provenientes das Cultivares Cordovil de Serpa e Galega Vulgar na Região Do Alentejo*. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biotecnológicas, UAlgFCT.
- Belitz, H., Grosch, W., & Schieberle, P. (. (2009). *Food Chemistry (4th editions)*. Berlin, Heidelberg:Springer Berlin Heidelberg.
- Bianco, A., Melchioni, C., Romeo, G., Scarpati, M., & Uccella, N. (1998). Microcomponents of olive oil - III. Glucosides of 2(3,4-dihydroxy-phenyl) ethanol. *Food Chemistry*, 63, 461-464.
- Böhm, J. (s.d.). *O grande livro da Oliveira e do Azeite. Portugal oleícola*. Lisboa: Dinalivro editora.
- Boskou, D. (1996). *Olive Oil - Chemistry and Technology*. Champaign Illinois: AOCS Press.
- Boskou, D. (1998). *Química y Tecnología del Aceite de Oliva*. Madrid, Espanha: Editado por Boskou, D. , Mundi Prensa Libros, S.A.

- Boskou, D. (2008). Olive Oil: Minor Constituents and Health. Em *Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil*. In D. Boskou (Ed.) (pp. 11-44). CRC Press.
- Boskou, D. (s.d.). Olive Oil: Chemistry and Technology. Vol.41. Champaign: AOCS Press.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006). Olive Oil Composition. Olive Oil Chemistry and Technology. AOCS Publishing.
- Boukhchina, S., Sebai, K., Cherif, A., Kallel, H., & Mayer, P. (2004). Identification of glycerophospholipids in rapeseed, olive, almond, and sunflower oils by LC-MS and LC-MS-MS. *Canadian Journal of Chemistry* 1215, 1210-1215.
- CA. (20 de 09 de 2018). *Expresso*. Obtido de http://expresso.sapo.pt/economia/economia_agricultura/producao/producao-de-azeite-aumentou-44-em-2011=f765821#gs.MJhNGeA
- Casa do Azeite. (s.d.). *Casa do Azeite*. Obtido em 27 de Junho de 2018, de Casa do Azeite: <http://www.casadoazeite.pt/Azeite/Como-se-produz>
- Casal, S., Malheiro, R., Sendas, A., Oliveira, B., & Pereira, J. A. (2010). *Olive oil stability under deep-frying conditions*. Food and Chemical Toxicology.
- COI - Conselho Oleícola Internacional. (1998). *Enciclopédia Mundial da Oliveira*. Barcelona: Plaza & Janés Editores, S.A.
- Conselho Oleícola Internacional. (1996). *Enciclopédia Mundial de Oliveira*. Madrid: Conselho Oleícola Internacional.
- Conselho Oleícola Internacional. (1998). *Enciclopédia Mundial da Oliveira*. Barcelona: Plaza & Janés Editores, S.A.
- Cooperativa Agrícola dos Olivicultores de Murça, C. (15 de 08 de 2018). *O Azeite*. Obtido de Azeite Porca da Murça: <http://www.caom.pt/caom/#>
- Cunha, S. (2007). *Autenticidade e Segurança de Azeites e Azeitonas. Desenvolvimento de metodologias cromatográficas para o doseamento de triacilgliceróis, fitosteróis, tocoferóis/tocotrienóis e pesticidas*. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto: Dissertação de Doutoramento.

- Curci, V. (2001). Caratteristiche dell'oliva. In: Manuale dell'olio d'oliva. Em V. Curci, *Caratteristiche dell'oliva. In: Manuale dell'olio d'oliva* (pp. 31-43). Edagricole - Edizioni Agricole della Società Gruppo Calderini Edagricole.
- Dias, S. (2009). *Pasta de azeite versus azeite virgem extra*. Lisboa: Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia.
- Directo del Olivar. (10 de 09 de 2018). *Aceite de oliva filtrado o sin filtrar, ¿cuál es mejor?* Obtido de Directo del Olivar: <https://www.directodelolivar.com/aceite-de-oliva-filtrado/>
- Ferguson, L., Sibbett, G., & Martin, G. (1994). *Olive production manual*. Oakland, California: University of California. Division of Agriculture and Natural Resources.
- Firestone, D. (2005). Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Volumes 1-6, 6th Edition. Em *Olive Oil*. In F.Shahidi (Ed.) (pp. 303-331). John Wilwy e Sons.
- Fortini, M., Migliorini, M., Cherubini, C., Cecchi, L., Guerrino, L., Masella, P., & Parenti, A. (2015). Shelf life and quality of olive oil filtered without vertical centrifugation. *European Journal of Lipid Science and Technology*.
- García, E., Luh, B., & Martin, M. (2005). *Processing Fruits Science And Technology*. Florida, Estados Unidos: (Editado por Barret, D., Somogyi, L., Ramaswamy, H. CRC Press.
- Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(7), 678-690.
- Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (s.d.). Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(7), 678-690.
- Gonzalez, P., Mauriz, J., & González-Gallego, J. (2002 p.63-78). *Shock Hemorragico y Radicales Libres: Papel Protector de la Glicina*. In: Marroni, NP. et al. *Estresse Oxidativo e Antioxidantes*. Porto Alegre.

- Gouveia, J. (1995). *“Azeites virgens do Alto Alentejo – comportamento químico, tecnológico e sensorial”*. Lisboa: Dissertação para obtenção de grau de doutor. Instituto Superior de Agronomia.
- Gouveia, J., Calvet, N., Saldanha, J., Martins, A., Modesto, M., & Sobral, V. (2002). *O azeite em Portugal*. Lisboa: INAPA.
- GPP-Gabinete de Planeamento, P. e. (19 de 09 de 2018). Obtido de Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral: <http://www.gpp.pt/index.php/estatisticas-e-analises/siaz-sistema-de-informacao-sobre-o-azeite-e-a-azeitona-de-mesa-2>
- Grigoriadou, D., & Tsimidou, M. (2006). *Quality control and storage studies of virgin olive oil: exploiting UV spectrophotometry potential EUR. J. Lipid Sci. Technol.*
- Gutiérrez, F., & Fernández, J. (2002). Determinant parameters and components in the storage of virgin olive oil. Prediction of storage time beyond which the oil is no longer of “extra” quality. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 571-577.
- Gutiérrez, R., Gonzalez-Quijano, F., & Dobarganes, M. (1988). Analytical procedures for the evaluation of used frying fats. In: Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.D. (Eds.). *Em Frying of Food: Principles, Changes, New Approaches* (pp. 141-154. Citado em Kalogianni et al., 2011)). Chichester: Ellis Horwood Ltd.
- Harwood, J., & Aparício, R. (1999). *Handbook of olive oil, analysis and properties (1st edition, p.638)*. Springer.
- International Olive Council. (Março de 2017). The Portuguese Olive Sector. *Market Newsletter, n°114*.
- Kalua, C., Allen, M., Bedgood Jr, D., Bishop, A., Prenzler, P., & Robards, K. (2007). *Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review Food Chemistry*.
- Lozano-Sánchez, J., Cerretani, L., Bendini, A., Gallina-Toschi, T., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2012). New Filtration Systems for Extra-Virgin Olive

- Oil: Effect on Antioxidant Compounds, Oxidative Stability, and Physicochemical and Sensory Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3754-3762.
- Méndez, A., & Falqué, E. (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil.
- Morales, M., & Przybylski, R. (2000). *Olive Oil Oxidation. In Handbook of Olive Oil - Analysis and properties*. Ed. Harwood J.; Aparicio R.; Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, 459-490. ISBN: 0-8342-1633-7.
- Moreaux, S. (2002). *A Oliveira*. Lisboa: 1ª edição, Temas e Debates - Actividade Editoriais Lda.
- Ngai, C., & Wang, S. (2015). Filter or not? A Review of the Influence of Filtration on Extra Virgin Olive Oil. *UC Davis Olive Center at the Robert Mondavi Institute*.
- Owen, R., Mier, R., Giacosa, A., Hulli, W., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000). *Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oils*. *Clinical Chemistry* 46 (7): 976-988.
- Paraskevopoulou, D., Boskou, D., & Paraskevopoulou, A. (2007). *Oxidative stability of olive oil-lemon juice salad dressings stabilized with polysaccharides*. *Food Chemistry* 101: 1197-1204.
- Ramírez-Tortosa, M., Granados, S., & Quiles, J. (2006). Chemical Composition, Types and Characteristics of Olive Oil. *Olive oil and health*. CAB Internacional.
- Reiter, B., & Lorbeer, E. (2001). Analysis of the wax ester fraction of olive oil and sunflower oil by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists'Society*, 78, 881-888.
- Ribeiro, L. (2005). Caracterização química do aroma de azeites virgens com atributos positivos e negativos. Caparica: Doutoramento em Química, especialidade Química Orgânica. Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa.
- Ruiz, L., Rodriguez, A., Fernandez, M., Marquez, A., Pozo, M., Bernardino, J., . . . Ojeda, M. (1991). Analisis de aceituna. In: Analistas de Laboratório de Almazara. Em L. Ruiz, A. Rodriguez, M. Fernandez, A. Marquez, M. Pozo, J. Bernardino, . . . M.

- Ojeda, *Análisis de aceituna*. In: *Analistas de Laboratório de Almazara* (pp. 16-39). Sevilla: Edición Dirección General de Investigación y Extensión Agrárias.
- Sánchez, J., Carretero, A., & Gutiérrez, A. (2001). Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario. Em *Composición del aceite de oliva* (pp. 195-224). Granada: Omega 3 e F.Puelva.
- Sánchez, J., Cerretani, L., Bendini, A., Toschi, T., Carretero, A., & Gutiérrez, A. (2012). New Filtration Systems for Extra-Virgin Olive Oil: Effect on Antioxidant Compounds, Oxidative Stability, and Physicochemical and Sensory Properties. *Agricultural and Food Chemistry*.
- Santinelli, F., Damiani, P., & Christie, W. (1992). The triacylglycerol structure of olive oil determined by silver ion high-performance liquid chromatography in combination with stereospecific analysis. *Journal of the American Oil Chemists'Society*, 69, 552-556.
- Scientificus. (25 de Junho de 2015). *Oliveira, Azeite e Águas Residuais - Parte IV*. Obtido em 15 de Agosto de 2018, de Scientificus: <https://scientificusblogpt.wordpress.com/2015/06/25/oliveira-azeite-e-aguas-residuais-parte-iv/>
- Serrano, L. (Junho de 2014). Monitorização, ao longo de 12 meses dos teores de peróxidos, aldeídos e clorofila de eazeites virgem extra, monovarietais e de mistura, produzidos em Portugal e armazenados em 4 diferentes condições. *Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Segurança Alimentar e Saúde Pública*. Portugal: Instituto Superior De Ciências Da Saúde.
- Servili, M., Selvaggini, R., Esposto, S., Taticchi, A., Montedoro, G., & Morozzi, G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 113-127.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2005). *Lipid Oxidation: Measurement Methods, Bailey's*. Sixth Edition, Six Volume.
- Sicani, V., Poiana, M., & Giuffré, A. M. (2010). Evolution of phenolic compounds of virgin oliveoil during 12 months storage. *Revista Italiana Delle Sostanze Grasse*.

- Silva, L. (2008). *Determinação da estabilidade de óleos e de compostos com actividade anti-aterosclerótica do azeite durante o processamento de alimentos*. Dissertação de mestrado da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- The Olive World. (31 de Julho de 2018). *A História da Oliveira*. Obtido em 31 de Julho de 2018, de LOA The Olive Oil: <https://www.loa.pt/a-historia>
- Tiscornia, E., Forina, M., & Evangelisti, F. (1982). Chemical composition of olive oil and variations induced by refining. *Revista italiana delle Sostanze Grasse*, 59, 519-556.
- Visioli, F., Grande, S., Bogani, P., & Galli, C. (2006). Antioxidant Properties of Olive Oil Phenolics. Olive oil and health. CAB International.